ÉTUDES SUR LA REPRODUCTION.

A PROPOS

DE LA

MATURATION DE L'ŒUF PARTHÉNOGÉNÉTIQUE.

Bruxelles. — F. HAYEZ, Imprimeur de l'Académie royale de Belgique,
rue de Louvain, 108.

I

A PROPOS

DE LA

MATURATION DE L'ŒUF PARTHÉNOGÉNÉTIQUE

PAR

Aug. LAMEERE,

Docteur en sciences naturelles,
Chef des travaux zoologiques à l'Université de Bruxelles,
Secrétaire de la Société entomologique de Belgique.

THÈSE

COURONNÉE AU CONCOURS DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR POUR 1888-1889.

BRUXELLES
H. LAMERTIN, LIBRAIRE-ÉDITEUR
33, rue du Marché au Bois

1890

QUESTION PROPOSÉE :

« *Faire connaître les phénomènes de maturation de l'œuf d'un animal se développant par parthénogénèse.* »

> Sucht den ruhenden Pol in der Erscheinungen Flucht.
> SCHILLER.

Nous avons divisé notre Mémoire en trois parties : dans la première nous exposons nos recherches personnelles; nous faisons ensuite l'historique du sujet; nous terminons par les considérations théoriques et les conclusions générales auxquelles mène l'étude de la maturation des œufs parthénogénétiques.

Nous tenons à exprimer ici nos sentiments de reconnaissance envers les maîtres qui nous ont jusqu'à ce jour guidé dans l'étude de la Biologie, MM. YSEUX et ERRERA, de l'Université de Bruxelles, ÉD. VAN BENEDEN, de l'Université de Liège, BÜTSCHLI et BLOCHMANN, de l'Université de Heidelberg.

A PROPOS

DE LA

MATURATION DE L'ŒUF PARTHÉNOGÉNÉTIQUE.

I.

OBSERVATIONS.

Les recherches de Éd. Van Beneden tendent à démontrer qu'un organisme provient toujours, par division, d'une cellule unique.

Ou bien cette cellule originelle est fille d'une autre cellule, et dans ce cas il y a *agamogénèse;* ou bien elle est le résultat de l'union de deux gonocytes ou gamètes qui sont des cellules dont le noyau a subi une réduction de sa substance chromatique, et il y a *gamogénèse.*

Il peut arriver que l'un de ces gonocytes ou cellule incomplète subisse la division et évolue solitairement en organisme : c'est de la *parthénogénèse.*

Dans l'état actuel de la Science, on considère comme parthénogénétique l'œuf qui se développe sans recevoir de spermatozoïde.

Ce phénomène atteint son zénith chez les Pucerons : c'est là que nous avons voulu l'étudier.

Comme pour y arriver nous avons dû avoir forcément

recours à des manipulations de laboratoire compliquées, nous avons cherché à contrôler nos observations sur le vivant, et nous y avons réussi chez un Rotifère.

C'est de l'œuf parthénogénétique de celui-ci que nous nous occuperons d'abord.

A. — **Étude sur la maturation de l'œuf d'été de l'Asplanchna Sieboldii Leydig.**

Nous avons pu observer les phénomènes de la maturation de l'œuf d'été à l'état vivant chez un Rotifère de grande taille décrit par Leydig ([1]) sous le nom de *Notommata Sieboldii* et actuellement rangé dans le genre *Asplanchna* Gosse ([2]).

Cet animal, très visible à l'œil nu, puisqu'il peut atteindre 2 millimètres, est essentiellement favorable à l'étude directe : vivant à la surface des eaux douces, il est d'une transparence parfaite, comparable à la diaphanéité des formes pélagiques.

Le petit nombre d'individus dont nous avons pu disposer ne nous a pas permis d'en faire des préparations durables : nous nous proposons de rechercher avec soin cette espèce, car les détails qu'il nous a été donné de voir sur le vif nous font espérer que, soumis aux procédés de la technique moderne, les œufs de l'*Asplanchna Sieboldii* nous révéleront des faits d'intérêt supérieur.

Nous l'avons découvert en juillet, époque à laquelle n'existent que des femelles déjà aisément reconnaissables à leur aspect extérieur ; ce fait et l'étude à laquelle nous nous

([1]) Fr. Leydig, *Ueber dem Bau und die systematische Stellung der Räderthiere*. — Zeitschr. f. wiss. Zool., VI, p. 1, 1854.

([2]) P. H. Gosse, *Description of Asplanchna priodonta, an animal of the class Rotifera*. — Ann. a. Mag. Nat. Hist., ser. 2, VI, p. 18, 1850.

sommes livré ne laissent aucun doute sur l'absence d'accouplement estival chez cette forme, pour laquelle se trouve vérifiée l'ancienne assertion de Cohn (1) déclarant les Rotifères capables de se reproduire tout l'été parthénogénétiquement, assertion récemment mise en doute, pour certaines espèces, par Joliet (2) et Plate (3).

L'*Asplanchna Sieboldii* semble donc être un organisme à parthénogénèse continue, interrompue seulement à la fin de la belle saison par l'apparition d'œufs à coque résistante destinés à être fécondés; ces œufs passent l'hiver et reproduisent une suite de générations parthénogénétiques pourvues des œufs à mince membrane dont nous avons étudié la maturation.

Pour y arriver, nous avons eu recours à la méthode suivante :

Placés dans un vase plein d'eau, les *Asplanchna* ont une tendance à s'élever assez rapidement à la surface et à se diriger vers la lumière. On peut alors facilement les pêcher, à l'aide d'un tube de verre très effilé, et en déposer un individu sur un porte-objet. Afin de ne pas l'écraser sous la lamelle, et en même temps pour l'immobiliser, nous avons employé le procédé qui a rendu tant de services à Bütschli dans ses mémorables recherches sur les Infusoires (4). Aux quatre

---

(1) Cohn, *Die Fortpflanzung der Räderthiere.* — Zeitschr. f. wiss. Zool., VII, p. 431, 1856.

(2) Joliet, *Monographie des Mélicertes.* — Archives de Zool. expér. et génér., sér. 2, I, p. 131, 1883.

(3) Plate, *Beiträge zur Naturgeschichte der Rotatorien.* — Jena. Zeitschr. f. Naturw., XII, 1885.

(4) O. Bütschli, *Studien über die ersten Entwickelungsvorgänge der Eizelle, die Zelltheilung und Conjugation der Infusorien.* — Abhandl. d. Senkenb. naturf. Gesells., X, p. 213, 1876.

coins du couvre-objet est fixée une parcelle d'un mastic consistant en cire d'abeille mêlée de térébenthine de Venise; cette composition, qui adhère parfaitement au verre sec, doit avoir une consistance assez molle pour être facilement compressible. Soutenue de cette façon, la lamelle peut être rapprochée graduellement de la lame par une simple pression exercée au moyen d'aiguilles, et l'animal emprisonné entre les deux surfaces de verre est comprimé à volonté jusqu'à immobilité complète, sans craindre de le voir écrasé. Si l'on a soin d'empêcher l'évaporation de l'eau qui baigne le Rotifère, on parvient ainsi à le maintenir en vie pendant plusieurs heures.

L'immobilité de l'*Asplanchna,* obtenue par ce procédé, n'empêche pas malheureusement le mouvement désordonné des organes internes, ce qui rend l'observation très pénible et l'emploi d'un grossissement considérable impossible : nous dûmes nous contenter de l'objectif V de Seibert, avec son oculaire I.

Nous avons figuré les phases successives parcourues par un même œuf depuis le commencement de la période de maturation jusqu'à la division en quatre blastomères (pl. I et II). C'est à l'aide de notes et de croquis rapides que nous avons pu exécuter ces dessins; nous avons été témoin, à trois reprises différentes, des phénomènes qu'ils représentent et que nous allons décrire.

Les œufs subissent leur complet développement dans une dilatation considérable de l'oviducte, l'ovisac de Gosse, l'utérus de Leydig, occupant toute la partie inférieure du corps : les *Asplanchna* sont, en effet, vivipares et dépourvus d'intestin terminal et d'anus.

L'ovaire est en forme de fer-à-cheval qui embrasse des

deux côtés l'estomac, et des vésicules germinatives s'y voient sous l'aspect de taches claires et ovalaires renfermant un corps réfringent muriforme, isolées dans un protoplasma finement granuleux.

A la convexité du fer-à-cheval, faisant hernie dans l'utérus, on trouve généralement un œuf de taille plus ou moins considérable et ellipsoïde, dont l'accroissement se fait rapidement. La vésicule germinative n'a plus du tout l'apparence qu'elle affecte dans l'ovaire : c'est une tache claire et arrondie dans laquelle Leydig (loc. cit.) prétend n'avoir reconnu aucune différenciation. Nous croyons cependant y avoir observé, dans les œufs ayant atteint leur grandeur maximum, un espace plus clair encore, sans doute la tache germinative.

Le vitellus, parfaitement transparent, est une masse uniforme, finement pointillée, plus claire autour de la vésicule germinative; au fur et à mesure que le développement progresse, on y voit apparaître des globules réfringents deutoplasmatiques plus ou moins volumineux, et surtout bien visibles après le commencement de la segmentation.

L'œuf, ayant cessé de croître, se revêt d'une membrane vitelline extrêmement mince, et s'isole de l'ovaire.

La vésicule germinative commence alors à être le siège d'importantes modifications.

Située excentriquement, plus près de l'un des pôles de l'œuf que de l'autre (pl. I, fig. 1), on la voit peu à peu se diriger obliquement vers la surface (fig. 2). La tache germinative devient de moins en moins visible et finit par disparaître entièrement; la vésicule commence alors à se déformer (fig. 3), ses contours deviennent indistincts et elle disparaît. La grande mobilité des points à considérer nous a empêché de

suivre en détail le processus de cette disparition, mais il ne nous a pas paru que la vésicule se fragmentât, comme Fol [1] l'aurait observé sur l'œuf vivant de l'*Asterias glacialis.*

Leydig (loc. cit.), ayant en vue précisément l'espèce qui nous occupe, dit : « Es hat mir geschienen, als ob der homo- » gene helle Kern des reifen Eies — das Keimbläschen — in » einer genetischer Beziehung zu den Kernen des Furchungs- » kugeln stehe, d. h. durch unmittelbare Theilung dieselbe » liefere. »

Cette assertion fut réfutée pour un autre Rotifère, *Lacinularia socialis,* par Huxley [2] et par Flemming [3], qui constatèrent la disparition de la vésicule germinative : ce dernier auteur vit même, au point correspondant à cette disparition, se former une dépression dans laquelle il supposait devoir se trouver un globule polaire, sans avoir pu distinguer celui-ci positivement.

Bütschli (loc. cit.) confirma les dires de Huxley et de Flemming par l'étude de l'*Asplanchna Sieboldii,* constata également la disparition de la vésicule, mais n'aperçut ni fuseau directeur, ni globule polaire.

Un grand espace clair témoigne seul de l'emplacement de la vésicule, et il s'écoule un certain temps avant qu'un nouveau phénomène apparaisse, alors que jusqu'ici l'observateur avait assisté à une suite de modifications continue.

---

(1) H. Fol, *Recherches sur la fécondation et le commencement de l'Hénogénie chez divers animaux.* — Mémoires de la Soc. de Physique et d'Hist. natur. de Genève, XXVI, 1877-79.

(2) Th. Huxley, *Lacinularia socialis. — A Contribution to the Anatomy and Physiology of the Rotatoria.* — Trans. of the micr. Soc., 1852, p. 1.

(3) W. Flemming, *Studien in der Entwickelungsgeschichte der Najaden.* — Sitzungsb. Wien. Akad., LXXI, III. Abth., p. 81, 1875.

Ce repos est évidemment fictif et simplement causé par notre impuissance à voir le processus de formation de la figure dicentrique destinée à donner naissance à un globule polaire.

Chaque fois, en effet, que nous avons pu l'observer, le fuseau de maturation nous est apparu pour ainsi dire tout à coup, c'est-à-dire que les mouvements exécutés par l'œuf dans le corps du Rotifère nous ont empêché de distinguer ce fuseau avant sa complète constitution.

Perpendiculaire à la surface de l'œuf, mais obliquement placée par rapport à son grand axe, occupant en quelque sorte le chemin parcouru par la vésicule germinative, se montre une figure dicentrique (fig. 4). Elle est formée de deux cônes accolés à leur base, au sommet desquels s'irradient des aster.

Les filaments achromatiques qui constituent les cônes sont droits, ce qui concorde avec l'opinion formulée par Éd. Van Beneden, considérant ces éléments comme contractiles et comparables à des fibrilles musculaires (1). Ils ne nous ont pas apparu comme des courbes étendues d'un pôle à l'autre du fuseau, ainsi que les a représentés Trinchese (2) chez l'œuf vivant de l'*Amphorina cœrulea,* mais, à l'équateur de la figure dicentrique, ils semblaient interrompus par des corps légèrement plus réfringents, très peu distincts d'ailleurs, représen-

---

(1) Éd. Van Beneden, *Recherches sur la maturation de l'œuf, la fécondation et la division cellulaire* — Archives de Biologie, 1883.

Éd. Van Beneden & Ad Neyt, *Nouvelles recherches sur la fécondation et la division mitosique chez l'Ascaride mégalocéphale.* — Bull Acad Belg., XIV, 1887.

(2) S. Trinchese, *I primi momenti dell' evoluzione nei Molluschi.* — Atti R. Accad. dei Lincei, ser. 3, VII, p 3, 1880.

tant évidemment ce que jadis on eût appelé les granules de Bütschli, les éléments chromatiques, que nous nommerons, avec Waldeyer [1], les *chromosomes.*

Des deux aster, celui qui était situé contre la surface de l'œuf se distinguait plus difficilement et paraissait écrasé contre la membrane vitelline; l'autre se montrait comme une grande tache claire circulaire terminant le fuseau, à la circonférence de laquelle étaient fixées des fibrilles droites s'irradiant dans le vitellus. Nous avons en vain cherché à y voir le corpuscule central devant se trouver dans l'élément, les aster étant la manifestation de cet organe de la cellule, la sphère attractive, découvert par Éd. Van Beneden chez les Dicyémides, puis dans les œufs de l'*Ascaris megalocephala,* et retrouvé ensuite un peu partout, notamment par Kölliker dans les blastomères de l'Axolotl [2] et par Rabl [3] dans les cellules des larves de Batraciens.

Quelques instants après l'apparition du fuseau, on le voit s'engager dans une hernie du vitellus qui soulève la membrane de l'œuf. On dirait qu'il se fait une véritable poussée de l'intérieur vers l'extérieur, le fuseau faisant l'effet d'un bélier dirigé contre la surface. Ce phénomène a été également observé par Trinchese chez l'*Amphorina cœrulea,* et cet embryologiste le décrit (loc. cit.), identiquement avec les mêmes caractères, en ces termes : « Si forma così nel mezzo » dell' area polare un' eminenza conica, verdognola, che va » grado a grado crescendo mentre l'asse longitudinale del

[1] W. Waldeyer, *Ueber Karyokinese und ihre Beziehungen zu den Befruchtungsvorgängen.* — Archiv f. mikr. Anat., XXXII, p. 1, 1888.

[2] A. Kölliker, *Das Aequivalent der Attraktionssphären Ed. v. Beneden's bei Siredon.* — Anatom. Anzeiger, IV, p. 147, 1889.

[3] C. Rabl, *Ueber Zellteilung.* — Anatom. Anzeiger, IV, p. 21, 1889.

» vitello continua ad accorciarsi. L'ingradimento dell' emi-
» nenza è prodotto dalle energiche contrazioni del vitello, per
» le quali il fuso direzionale e il protoplasma verdognolo
» accumulato al suo polo periferico, sono spinti in fuori. In
» breve tutto il sole periferico dell' anfiastro direzionale è
» penetrato nell' eminenza che è diventata sferoidale ed ha
» nella sua base una profonda strozzatura. »

Nous avons vu chez l'*Asplanchna Sieboldii* la membrane vitelline, sous l'effet de la poussée, se plisser radiairement, de façon à offrir pendant un moment l'aspect d'un parasol ouvert (fig. 5). Des plis semblables ont été constatés par Fol (loc. cit.) chez l'*Asterias glacialis,* mais chez cette forme ils intéressent la surface du vitellus, l'œuf étant entouré de cette épaisse membrane que l'on peut comparer, comme l'a fait Éd. Van Beneden ([1]), à la zone pellucide des Mammifères.

Cette poussée observée chez *Nephelis* par Büstchli (loc. cit.) lui a fait croire jadis que le fuseau, représentant toute la vésicule germinative, était expulsé de l'œuf, erreur que O. Hertwig ([2]) a été le premier à relever.

La hernie du vitellus, s'accusant de plus en plus, prend la forme d'un bourgeon sphéroïde : nous n'avons pu suivre les détails de transformation du fuseau, mais, à un moment donné, nous avons parfaitement vu la hernie reliée par des filaments droits à un corps plus ou moins sphérique, de même volume, situé dans le vitellus, immédiatement en contact avec

([1]) Éd Van Beneden, *Contributions à l'histoire de la vésicule germinative et du premier noyau embryonnaire.* — Bull Acad Belg., sér. 2, XLI, p. 38, 1876.

([2]) O. Hertwig, *Beiträge zur Kenntniss der Bildung, Befruchtung und Theilung des thierischen Eies.* Zweiter Theil. — Morphol. Jahrb , III, p. 1, 1877.

la sphère attractive encore visible. Nous avons évidemment affaire à un globule polaire dont les chromosomes indistincts sont rattachés par les filaments réunissants de Éd. Van Beneden à une portion de la vésicule germinative restée dans l'œuf. Le globule s'isole sous forme d'une petite sphère qui tout à coup s'aplatit par suite de la pression de la membrane vitelline dont les plis s'effacent : le globule polaire a alors l'aspect d'une petite cellule dans laquelle on distingue un noyau sous forme d'un élément arrondi parfaitement homogène.

Bientôt s'évanouissent les filaments réunissants, l'aster disparaît et il ne reste plus dans le vitellus qu'un grand espace clair dans lequel une tache plus foncée décèle ce qui subsiste de la vésicule germinative (fig. 6).

Cette tache semble animée de mouvements amœboïdes : plus ou moins bosselée, elle change de forme et se déplace pour revenir à la position qu'occupait antérieurement la vésicule germinative près du centre de l'œuf (fig. 7).

En même temps elle grandit : primitivement du volume du globule polaire, lorsqu'elle a terminé son excursion et qu'elle a cessé ses mouvements pour prendre une forme sphérique, elle est devenue deux fois plus considérable sans atteindre cependant le volume de la vésicule germinative ; entre elle et celle-ci, il n'y a pas toutefois cette colossale différence que O. Hertwig [1] a constatée entre la vésicule germinative et l' « Eikern » du *Toxopneustes lividus*.

L'ensemble des phénomènes qui viennent d'être décrits n'a guère demandé plus d'une demi-heure.

---

(1) O. Hertwig, *Beiträge zur Kenntniss der Bildung, Befruchtung und Theilung des thierischen Eies.* — Morph. Jahrb., I, p. 347, 1875.

L'œuf nous montre maintenant un noyau sphérique ayant tous les caractères d'un noyau au repos : on n'y voit pas de tache comparable à celle de la vésicule germinative, mais des filaments plus réfringents, éléments chromatiques, assez difficiles à distinguer. Excentriquement, collé à la membrane, s'aperçoit le globule polaire, petit disque arrondi dont le noyau reste homogène (fig. 8). Ce stade de repos se maintient un certain temps, dix minutes à peu près.

Le noyau de l'œuf commence alors à se déformer, et ses chromosomes disparaissent à la vue. Autour de lui se laissent maintenant distinguer dans le vitellus des filaments rayonnants qui sont fixés à la membrane nucléaire : en se contractant d'une manière amœboïde, le noyau semble être tiraillé par ces filaments en tous sens, et il prend ainsi des formes étoilées très irrégulières et très changeantes (fig. 9), en même temps que ses contours deviennent de moins en moins distincts. Finalement il ne reste qu'un espace clair dans lequel, peu de temps après, apparaît un fuseau.

Ce fuseau (pl. II, fig. 1) a son axe coïncidant avec le grand axe de l'œuf et n'est par conséquent pas perpendiculaire au fuseau qui a donné naissance au globule polaire. Ses deux aster sont également bien visibles, sans que nous ayons pu apercevoir leurs corpuscules centraux. L'un des aster est placé près de la surface de l'œuf, l'autre à peu près en son milieu. L'aspect de cette figure dicentrique est absolument semblable à celui du fuseau de maturation, et ses dimensions sont les mêmes : ici aussi l'on voit deux cônes constitués par des filaments droits interrompus à leur base par des chromosomes. Ceux-ci semblent bientôt s'écarter dans la direction des deux pôles, et l'on dirait que le fuseau se raccourcit. Les filaments achromatiques disparaissent ; les deux aster subsistent, sur-

montant chacun une tache foncée représentant les éléments chromatiques et séparés par un espace clair (fig. 2). Tout à coup un étranglement se fait dans la masse vitelline, suivant un plan perpendiculaire à l'axe du fuseau et passant par le globule polaire, plan qui vient couper l'équateur de la figure dicentrique : l'œuf se trouve presque instantanément segmenté en deux blastomères très inégaux dans chacun desquels se reconstitue un noyau semblable à celui qui existe dans l'œuf après l'expulsion de l'unique globule polaire (fig. 3).

La segmentation continue bientôt après : les phénomènes que nous venons de décrire se reproduisent dans chacun des blastomères (fig. 4 et 5) ; c'est la plus grande des deux cellules qui se divise d'abord suivant un plan perpendiculaire au premier (fig. 6) ; le petit blastomère subit une métamorphose identique (fig. 7), puis les quatre blastomères ainsi formés, primitivement indépendants (fig. 8), se serrent les uns contre les autres ; le globule polaire occupe alors leur point d'intersection et n'a pas changé d'aspect (fig. 9).

Nous avons pu suivre quelques-unes des segmentations suivantes, mais le globule polaire a bientôt échappé à nos regards, soit qu'il ait effectivement disparu rapidement, comme Weismann et Ischikawa [1] l'ont constaté pour le globule polaire du *Conochilus volvox*, soit que nous n'ayons pu continuer à le distinguer des nombreux noyaux saillant à la face interne de l'utérus, passant et repassant sur l'œuf par suite du mouvement de l'organe.

L'un des individus sur lequel nous avons pu faire toute la

(1) A. Weismann & C. Ischikawa, *Ueber die Bildung der Richtungskörper bei thierischen Eiern.* — Bericht. d. naturf. Gesells. z. Freiburg i. B., III, p. 1, 1887.

série des observations ci-dessus relatées, remis en liberté et seul de son espèce dans une eau riche en micro-organismes. nous a montré le lendemain l'œuf dont nous avions suivi la maturation transformé en un embryon et continuant à se développer normalement.

Avec lui se trouvaient dans l'utérus deux autres embryons beaucoup plus avancés : il était aisé de reconnaître que c'étaient des femelles. Leydig (loc. cit.) s'étant assuré que chez l'*Asplanchna Sieboldii* il n'y a jamais dans l'utérus que des embryons d'un seul sexe, et comme aucun des individus que nous avons eu en notre possession ne nous a offert d'embryons mâles, nous en concluons que les œufs dont nous avons étudié la maturation étaient destinés à donner naissance à des Rotifères femelles.

Il résulte donc de notre étude que la maturation de l'œuf d'été de l'*Asplanchna Sieboldii* est caractérisée par les phénomènes suivants :

1° L'accroissement de volume;

2° La formation d'une membrane vitelline;

3° L'apparition de sphérules deutoplasmatiques continuant à se former et à s'accroître pendant la segmentation;

4° L'expulsion d'un unique globule polaire, phénomène dont il convient de retenir les particularités suivantes :

a. Le fuseau directeur est unique, perpendiculaire à la surface de l'œuf et semblable d'aspect aux fuseaux de division;

b. L'expulsion a lieu par une véritable poussée s'exerçant de l'intérieur du vitellus vers l'extérieur;

c. Après l'expulsion, la portion de la vésicule germinative restée dans le vitellus grandit, rentre à l'état de repos et prend l'aspect d'un noyau semblable à celui des blastomères : c'est ce noyau qui, en se divisant par karyokinèse, donne

naissance aux noyaux des deux premiers globes de segmentation ;

d. Le globule polaire présente un noyau qui reste homogène.

Notons enfin la grande différence qui existe entre les vésicules germinatives de l'ovaire et celle de l'œuf au moment où se forme la membrane vitelline.

Chez aucun animal la maturation d'un œuf ne recevant point de spermatozoïde n'avait pu jusqu'ici être constatée sur le vivant d'une façon complète. Pour ce qui concerne les Rotifères, Weismann et Ischikawa (loc. cit.) ont été obligés de faire des coupes pour s'assurer que chez *Conochilus volvox* il n'y a qu'un fuseau de maturation. Ils ont vu l'unique globule polaire chez cette espèce et encore chez *Callidina bidens*.

Avant eux, Billet (1) avait découvert un corps directeur chez *Philodina roseola*, et Tessin (2) avait observé un fuseau chez *Eosphora digitata*.

Les résultats auxquels nous sommes arrivé, et qui ont d'autant plus de valeur qu'ils ont été obtenus sans l'intervention d'aucun réactif, sont corroborés par les recherches que nous avons faites sur les Pucerons.

---

(1) Billet, *Sur les mœurs et les premiers phénomènes du développement de l'œuf de la* Philodina roseola — Bull. Scient. Dép. Nord, VI, pp. 1 et 69, 1883.

(2) Tessin, *Ueber Eibildung und Entwickelung der Rotatorien.* — Zeitschr. f. wiss. Zool., XLIV, p 273, 1886.

B. — Étude sur la maturation de l'œuf chez les Pucerons vivipares.

La multiplication des Pucerons est identique à celle des Rotifères : reproduction sans accouplement, répétée pendant tout l'été, alternant avec une génération sexuée automnale.

On trouve, pendant la belle saison, les gaines ovigères des Pucerons occupées par des embryons en voie de développement; à leur tour, ces embryons nous montrent déjà dans leurs gaines ovigères toutes les phases de la maturation de l'œuf et les premiers phénomènes de la segmentation. Pour étudier ces œufs, évoluant dans les embryons emboîtés dans les individus vivipares, nous avons eu recours à la méthode des coupes.

Les Pucerons sont fixés, par une immersion rapide, dans de l'eau chauffée à 80° ou dans de l'alcool absolu, bouillant et additionné de 1 °/₀ d'acide acétique. Le premier procédé semble donner les meilleurs résultats.

A l'aide d'aiguilles, on perce quelques ouvertures dans leur squelette chitineux, afin de permettre aux liquides de les pénétrer aisément, et on les enrobe dans la paraffine.

Les coupes doivent être, autant que possible, frontales; après leur rangement en séries par la méthode de Shällibaum, nous les avons colorées à l'aide de la solution connue sous le nom d'hématoxyline de Heidelberg ou de Grenacher; celles de 10 μ nous ont paru les plus favorables au but que nous poursuivions.

L'examen des préparations est des plus pénibles : nous avons passé un temps considérable à y rencontrer la suite des stades de la maturation de l'œuf; ceux-ci ne pouvaient être

étudiés qu'avec l'objectif à immersion homogène $^1/_{18}$ de Zeiss, et c'est à l'aide de ce grossissement que nous avons dessiné à la chambre claire les figures de ce mémoire qui concernent les Pucerons (pl. III).

Nos recherches ont porté à la fois sur deux espèces : *Aphis rosae* Linn. et *Aphis sambuci* Linn. Les phénomènes observés sont identiques dans les deux formes, et se complètent mutuellement; aussi n'avons-nous pas séparé leur description.

Immédiatement après la chambre terminale des gaines ovigères se montre un œuf en voie de maturation (pl. III, fig. 1), parfois encore relié par son cordon protoplasmique aux cellules nutritives. Son protoplasma est homogène, mais, au fur et à mesure que le volume de l'œuf s'accroît, il se charge d'éléments deutoplasmatiques, se colorant beaucoup moins par l'hématoxyline et faisant apparaître des taches claires dans le vitellus, principalement au voisinage de la vésicule germinative (pl. III, fig. 2 et 9). Ces taches, s'étendant et se fusionnant, envahissent toute la partie centrale de l'œuf de façon à exiler à la périphérie le protoplasma sous forme d'une zone homogène plus ou moins régulière.

Il ne se forme point de membrane vitelline, différence dès longtemps connue d'avec les œufs d'hiver destinés à être fécondés.

La vésicule germinative, très volumineuse, est plus ou moins sphérique et occupe d'abord le centre de l'œuf; mais, dans les œufs qui offrent déjà beaucoup de deutoplasme, les coupes la montrent invariablement à la périphérie et plus ou moins déformée (pl. III, fig. 3, 10, 11 et 12).

Elle renferme deux sortes d'éléments.

Ce sont d'abord des chromosomes se colorant fortement

par l'hématoxyline; nous en avons compté, quand c'était possible, presque toujours quatre. Ils constituent des cordons assez volumineux, dans lesquels apparaissent de gros granules foncés.

C'est ensuite un corps sphérique prenant moins la matière colorante, et occupant dans la vésicule une position très variable.

Nous trouvons dans les Pucerons un élément assez semblable dans les noyaux des cellules du corps adipeux, des glandes salivaires, des tubes de Malpighi et de l'épithélium intestinal; il est probablement l'homologue du nucléole que Balbiani ([1]) a vu dans les noyaux des glandes salivaires et d'autres organes de la larve du *Chironomus plumosus;* il aurait ainsi la signification d'un véritable nucléole, au sens que Flemming ([2]) attache à ce mot.

En parcourant les coupes, on trouve bon nombre d'œufs renfermant déjà quelques noyaux de division, et montrant en outre, extérieurement, un corps particulier qui n'est autre qu'un globule polaire.

Cet élément est situé à une place invariable; l'œuf est en ovale allongé dans le sens de la gaine ovigère qui le contient; c'est à l'une des extrémités du petit axe de cette ellipse que se trouve le globule polaire.

Il est, la plupart du temps, accolé au vitellus qu'il déprime légèrement; très rarement il se trouve fixé à la membrane épithéliale ovarique.

Nous le considérons comme purement nucléaire, mais formé de deux substances.

([1]) E. G. Balbiani, *Sur la structure du noyau des cellules salivaires chez les larves de* Chironomus. — Zool. Anzeiger, IV, p. 637, 1881.

([2]) W. Flemming, *Zellsubstanz, Kern und Zelltheilung.* — Leipzig, 1882.

C'est d'abord une petite masse hyaline, absolument dépourvue de structure, un peu chromophile, et que nous croyons homologue au *prothyalosome* découvert par Éd. Van Beneden chez l'*Ascaris megalocephala*.

Puis un corps arrondi central, presque toujours homogène, se colorant très fortement par l'hématoxyline; parfois on distingue dans cet élément deux ou trois filaments foncés, indice d'une réunion incomplète des chromosomes.

Souvent le globule polaire peut encore être aperçu lorsque la formation du blastoderme est presque achevée (pl. III, fig. 16); nous n'avons pu nous rendre compte de son mode de disparition, mais jamais nous ne l'avons vu se diviser ni repasser par le stade de *spirem*.

Comment s'est formé ce corps directeur ? C'est ce que les préparations montrent le plus difficilement.

Dans sa communication préliminaire sur la présence des globules polaires chez les Insectes, Blochmann ([1]) n'avait pas encore réussi à voir le fuseau de maturation de l'œuf des Pucerons vivipares; dans son travail définitif ([2]), il ne le figure qu'une fois et pour une seule des espèces qu'il a étudiées.

Nos préparations de l'*Aphis sambuci* ne nous ont rien donné, mais nous avons été plus heureux avec l'*Aphis rosae*, après de longues recherches.

Nous avons trouvé un œuf offrant une plaque équatoriale sous forme d'une masse chromatique homogène allongée transversalement au milieu d'un espace clair (pl. III, fig. 4);

([1]) F. Blochmann, *Ueber die Richtungskörper bei Insekteneiern.* — Biol. Centralbl., VII, 1887.

([2]) Id., *Ueber die Richtungskörper bei Insekteneiern.* — Morphol Jahrb., XII, p. 544, 1887.

sa position nous permet de déclarer que le fuseau directeur doit être perpendiculaire à la surface du vitellus.

Un autre œuf (pl. III, fig. 5) nous a montré le globule polaire venant d'être expulsé; ses chromosomes sont encore séparés; dans le vitellus on remarque le reste de la vésicule germinative sous forme d'une masse chromatique située dans un espace clair, de même volume que le noyau du globule polaire. L'ensemble de cette figure rappelle tout à fait ce que nous avons représenté chez l'*Asplanchna Sieboldii* dans la figure 6 de notre planche I : cet œuf nous semble ne laisser aucun doute sur la nature de l'élément que jusqu'ici nous avons considéré comme globule polaire.

Metschnikoff [1], et le Traité de Claus répète cette erreur, prétend avoir observé chez les Pucerons la division directe de la vésicule germinative en les noyaux des blastomères; en 1876 cependant, Bütschli (loc. cit.) avait déjà observé la disparition de la vésicule germinative, et il figure une sorte de fuseau, sans avoir pu voir de corps directeur.

Nous avons trouvé dans nos préparations de l'*Aphis sambuci* aussi bien que de l'*Aphis rosae* (pl. III, fig. 6) des œufs offrant le globule polaire, et dans le vitellus un unique noyau, reste de la vésicule germinative, rentré à l'état de repos. Ce noyau est de dimensions un peu moindres que celles de la vésicule germinative, et l'on n'y aperçoit plus le nucléole. Les chromosomes apparaissent dans un œuf d'*Aphis sambuci*, figuré planche III, fig. 13, sous forme d'un cordon continu renfermant de gros granules plus foncés : c'est absolument sous cet aspect que Bütschli (loc. cit., pl. XV, fig. 3) a repré-

---

[1] E. Metschnikoff, *Embryologische Studien an Insekten.* — Zeitschr. f. wiss. Zool., XVI, p. 389, 1866.

senté l'élément chromatique d'un noyau du blastoderme de l'*Aphis rosae*.

Ce cordon semble donc, comme les chromosomes de la vésicule germinative, comme aussi le globule polaire, être constitué de deux substances, l'une plus claire, l'autre fixant beaucoup plus énergiquement la matière colorante. La première est sans doute homologue à la « substance intermédiaire » observée dans les anses de l'*Ascaris megalocephala*, au moment de leur division, par Éd. Van Beneden; l'autre serait la chromatine proprement dite.

Dans un autre œuf de l'*Aphis sambuci*, où le globule polaire a été également expulsé (pl. III, fig. 14), nous voyons la prophase du noyau unique : le cordon chromatique est dispersé en de nombreux éléments situés à la périphérie de la vésicule nucléaire et offrant l'aspect de filaments ténus dans lesquels on distingue un granule plus foncé. En la figure 15 de la même planche nous avons représenté la plaque équatoriale indiquant une phase plus avancée de la division. Enfin les figures 7 et 8 de la planche montrent chez l'*Aphis rosae* les stades de prophase et de métaphase de la division des deux premiers noyaux de segmentation issus du noyau resté dans l'œuf après l'expulsion du globule polaire.

L'étude de l'œuf d'été des Pucerons mène donc aux conclusions suivantes quant aux phénomènes de la maturation :

1° L'œuf augmente de volume;

2° Il ne se revêt point d'une membrane vitelline;

3° Il se charge de deutoplasme autour de la vésicule germinative;

4° Il donne naissance à un seul globule polaire dont l'expulsion est caractérisée par les processus suivants :

a. La plaque équatoriale du fuseau directeur est tangentielle à la surface de l'œuf;

b. La portion de la vésicule germinative restée dans le vitellus se reconstitue sous forme d'un noyau au repos avant de se diviser en les deux premiers noyaux de segmentation;

c. Ce noyau ne renferme plus trace du nucléole que contenait la vésicule germinative;

d. Le globule polaire, comme les chromosomes, est formé de deux substances se comportant différemment vis-à-vis des matières colorantes.

Ni Brass (1), ni Will (2) n'ont vu le globule polaire des œufs des Pucerons vivipares; Witlaczil (3) ne le mentionne pas, mais, comme le fait remarquer Blochmann, il semble l'avoir représenté dans sa figure 9*A* sous forme d'un petit corps situé à droite, enfoncé dans la superficie de l'œuf. C'est Blochmann (loc. cit.) qui, le premier, a fait l'importante découverte de l'expulsion d'un seul globule polaire chez les œufs d'été de *Forda formicaria* et d'une autre espèce d'Aphidien indéterminée, en même temps qu'il démontrait l'existence de deux fuseaux de maturation dans les œufs d'hiver de l'*Aphis aceris*.

---

(1) A. Brass, *Das Ovarium und die ersten Entwickelungsstadien des Eies der viviparen Aphiden* — Zeitschr. f Naturw Halle, LV, p 339, 1882.

(2) L. Will, *Zur Bildung des Eies und des Blastoderms der viviparen Aphiden* — Arbeit. zool -zoot Inst. Wurzburg, VI, p 1, 1883.

(3) E Witlaczil, *Entwickelungsgeschichte der Aphiden*. — Zeitschr f. wiss Zool., XL, p 559, 1884.

II.

HISTORIQUE DE LA DÉCOUVERTE DES FAITS RELATIFS A LA MATURATION DES OEUFS PARTHÉNOGÉNÉTIQUES.

En 1879, Grobben ([1]) a représenté un globule polaire dans l'œuf d'été de *Moina rectirostris*.

Un peu plus tard, en 1883, un élève de Giard, Billet ([2]), signala la présence d'un corps directeur chez un Rotifère, *Philodina roseola*.

En post-scriptum à sa brochure intitulée : *Die Continuität des Keimplasma's als Grundlage einer Theorie der Vererbung*, parue en 1885, Weismann mentionna, sans y ajouter aucune réflexion, la découverte d'un globule polaire de nature cellulaire dans l'œuf d'été du *Polyphemus oculus*.

Il publia, en 1886, une communication préliminaire [1]* à un travail étendu sur la formation des globules polaires dans les œufs parthénogénétiques de plusieurs espèces de Daphnides : mais, avant que ce mémoire parût, Blochmann annonça, en 1887 [2], l'importante découverte qu'il venait de faire des globules polaires chez les Insectes. L'habile technicien de l'Université de Heidelberg faisait savoir en outre qu'étudiant les œufs des Pucerons, il trouvait deux globules polaires

([1]) C. Grobben, *Die Entwickelungsgeschichte der Moina rectirostris* — Arbeit zool. Inst Wien, II, p. 203, 1879.

([2]) Billet, *Sur les mœurs et les premiers phénomènes du développement de l'œuf de la* Philodina roseola — Bull. Scient. Dép. Nord, VI, pp. 1 et 69, 1883

* Les numéros entre [ ] renvoient à l'*Index chronologique* qui figure à la fin du présent chapitre.

dans les œufs fécondés et un seul dans les œufs parthénogénétiques. Il émit l'idée qu'il serait important de rechercher s'il n'y a pas là une loi générale quant au nombre des globules polaires; il insistait en même temps sur la nécessité d'examiner d'autres cas de parthénogénèse, notamment d'étudier la maturation d'œufs parthénogénétiques donnant naissance à des formes mâles.

Le travail in extenso de Blochmann vit le jour la même année [5], mais quelques mois plus tôt avait paru le mémoire que Weismann préparait depuis deux ans avec son élève Ischikawa [3].

Les auteurs démontraient que l'œuf d'été des Daphnides n'expulse qu'un globule polaire, qu'il soit pauvre (*Leptodora hyalina, Bythotrephes longimanus, Polyphemus oculus, Moina rectirostris* et *paradoxa*) ou riche (*Daphnia longispina, Daphnella brachyura, Sida cristallina*) en deutoplasme.

Le globule se divise en trois (*Bythotrephes longimanus*), en deux (*Polyphemus oculus, Daphnia longispina*) ou non (*Leptodora hyalina, Daphnella brachyura*). Il se forme dans l'ovaire (*Moina*), dans la chambre incubatrice avec formation du fuseau dans l'ovaire (*Leptodora hyalina, Polyphemus oculus, Daphnia longispina*), ou entièrement dans la chambre incubatrice (*Bythotrephes longimanus*).

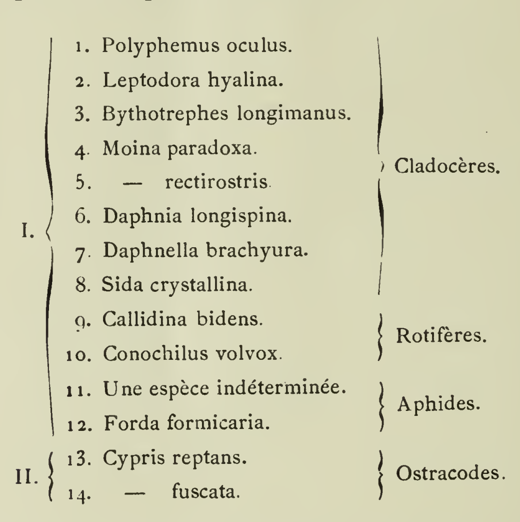
La présence d'un unique globule polaire était également constatée chez deux espèces de Rotifères, *Callidina bidens* et *Conochilus volvox*.

Tous ces cas de reproduction sont identiques à celui des Pucerons : multiplication estivale réitérée sans accouplement, avec interruption à l'automne par l'apparition d'une génération sexuée.

Mais Weismann et Ischikawa prouvaient également la

présence d'un unique globule polaire dans un autre cas de reproduction, celui des Ostracodes : ces Crustacés ne pondent pas deux sortes d'œufs, et Weismann a observé pour certaines formes [1], *Cypris reptans* et *fuscata* entre autres, la parthénogénèse se continuant indéfiniment; du moins, pendant plusieurs années que le professeur de Fribourg a étudié et élevé ces espèces, il n'a jamais vu de mâles, ni de femelles fécondées. Ces observations ont été confirmées par W. Müller [2], qui est arrivé au même résultat d'une façon indépendante.

Il se trouvait donc qu'il y avait expulsion d'un unique globule polaire lors de la maturation de l'œuf parthénogénétique des quatorze espèces suivantes :



I.	1. Polyphemus oculus.	Cladocères.
	2. Leptodora hyalina.	
	3. Bythotrephes longimanus.	
	4. Moina paradoxa.	
	5. — rectirostris.	
	6. Daphnia longispina.	
	7. Daphnella brachyura.	
	8. Sida crystallina.	
	9. Callidina bidens.	Rotifères.
	10. Conochilus volvox.	
	11. Une espèce indéterminée.	Aphides.
	12. Forda formicaria.	
II.	13. Cypris reptans.	Ostracodes.
	14. — fuscata.	

Or, ces quatorze cas se réduisent, en somme, à deux qui

[1] A. Weismann, *Parthenogenese bei den Ostracoden.* — Zool. Anzeiger, III, p. 12, 1880.

[2] W. Müller, *Beitrag zur Kenntniss der Fortpflanzung und der Geschlechtsverhältnisse der Ostracoden.* — Zeitschr. f Naturw Halle, LIII, 1880.

eux-mêmes ne sont en réalité que des variétés d'une seule forme de reproduction, considérée comme de la parthénogénèse normale et réitérée.

Entraîné par cette constance dans l'expulsion d'un seul globule polaire dans les cas connus, sans se donner la peine d'examiner le phénomène dans d'autres formes de la parthénogénèse, et considérant la liste très respectable des œufs fécondés de tous les embranchements où deux globules polaires ont été certainement constatés, Weismann admit sans conteste la loi du nombre que Blochmann avait avancée sous toutes réserves, et s'en attribua la complète paternité!

Il parle de la découverte de Blochmann comme n'étant pas concluante, à cause de la délicatesse et des difficultés de ses observations! Si la loi devait se vérifier, le seul fait absolument probant en sa faveur était bien dû à celui qui démontrait que chez une même forme il y a expulsion d'un globule polaire dans un cas et de deux dans l'autre : Weismann se contentait de signaler la présence d'un unique globule polaire dans les œufs parthénogénétiques de certaines espèces dont il ne devait faire connaître qu'un an plus tard les phénomènes de maturation des œufs fécondés.

Nous ne suivrons pas ces deux savants dans la polémique en laquelle ils se sont engagés à ce sujet [6 et 7], mais nous ne pouvions parler de leurs travaux sans rendre justice à Blochmann, et sans insister sur l'importance de sa découverte.

Weismann, essayant de faire cadrer cette loi du nombre des globules polaires avec ses idées concernant l'hérédité, y arrivait en bâtissant une théorie [4] dont nous aurons à parler dans la dernière partie de ce mémoire.

Un peu plus tard il publie, toujours en collaboration avec C. Ischikawa, une nouvelle notice [8] dans laquelle il nous

fait connaître que dans les œufs d'hiver des Daphnides il se forme toujours deux globules polaires. Les auteurs ont eu en outre l'occasion d'étudier la maturation de l'œuf non fécondé de l'*Artemia salina,* et n'y ont trouvé qu'un seul Richtungskörper.

Entretemps, Blochmann continuait patiemment ses recherches et, à la séance du 1er juin 1888 de la Société d'Histoire naturelle et de Médecine de Heidelberg [9], il annonçait avoir découvert deux globules polaires dans les œufs d'Abeille non fécondés destinés à donner naissance à des mâles.

L'ancienne hypothèse de Dzierzon se trouve définitivement vérifiée par la méthode des coupes : Blochmann constate l'absence en les œufs pondus dans les alvéoles à faux-bourdons de toute trace de spermatozoïde, cet élément étant au contraire immédiatement reconnaissable dans les œufs qui produiront des ouvrières.

Mais les phénomènes de la maturation des deux sortes d'œufs sont absolument identiques.

Il n'y a pas expulsion de globules polaires à proprement parler chez l'*Apis mellifica,* mais un phénomène semblable à celui qu'a constaté Blochmann chez les Fourmis et la *Calliphora vomitoria;* la vésicule germinative s'étant transportée à la périphérie de l'œuf donne lieu à deux fuseaux directeurs successifs, sans stade de repos intermédiaire; les chromosomes ainsi éliminés restent dans le vitellus sans qu'il y ait production de hernie ni expulsion d'un élément quelconque.

Chez l'Abeille, le premier noyau directeur ne se divise pas, tandis que le second se partage en deux moitiés.

Les trois masses chromatiques polaires ainsi formées se réunissent bientôt en une ou deux vacuoles claires dans lesquelles les chromosomes, sous forme de granulations, se

dispersent également, de manière à représenter le stade *spirem* de la division cellulaire. Après quoi ils disparaissent.

Dans les œufs fécondés comme dans les œufs parthénogénétiques, le reste de la vésicule germinative rentre à l'état de repos, se divise de concert avec le pronucléus mâle dans le premier cas, ou subit seul la suite des phénomènes de la segmentation dans l'autre.

Blochmann, concluant de sa découverte, avança l'opinion que dans le cas de parthénogénèse, il pourrait exister une relation entre le nombre des globules polaires et les sexes.

Quatre mois après la publication de ce résultat, Platner faisait connaître [10] que les phénomènes de la maturation chez le *Liparis dispar* sont identiques dans les œufs fécondés et dans les œufs se développant accidentellement par parthénogénèse. De part et d'autre il y a production de deux globules polaires sans stade de repos intermédiaire : comme dans les Fourmis, la Mouche et l'Abeille, il n'y a pas d'expulsion proprement dite. Le premier noyau directeur se divise, et les trois éléments polaires ainsi formés se fusionnent pour rester pendant un certain temps reconnaissables, revenus à l'état de repos. Le pronucléus se dirige vers le pôle animal à la rencontre du spermatozoïde, très visible dans les œufs fécondés, que celui-ci y soit ou non. La segmentation se fait régulièrement, qu'elle résulte de la division simultanée de deux pronuclei ou d'un seul. Cependant, dans les œufs parthénogénétiques, l'auteur constate parfois des divergences quant à la position des fuseaux de segmentation.

Carlier, au dire de Lacordaire [1], aurait obtenu trois générations successives parthénogénétiques du *Liparis dispar*, la

[1] Th. Lacordaire, *Introduction à l'Entomologie*, II, p. 383 — Paris, 1838.

dernière étant exclusivement composée de mâles. Dans ce cas, par conséquent, des œufs accidentellement non fécondés ont donné naissance à des femelles.

Comme les recherches de Platner ont porté sur plus de trois cents œufs, il faut admettre que les phénomènes de la maturation sont identiques, quel que soit le sexe de l'individu auquel l'œuf parthénogénétique doit donner naissance. Aussi Blochmann, ayant connaissance de la découverte de Platner, semble abandonner son idée de la dépendance du nombre des globules polaires et des sexes, dans son travail in extenso sur les œufs de l'Abeille, le dernier mémoire paru, à notre connaissance, sur la question qui nous occupe [11].

Cet opuscule, où l'auteur se plaint des difficultés considérables que présente le sujet, nous apporte deux faits nouveaux : bien que n'étant pas encore parvenu, après deux ans de recherches, à faire l'étude complète des œufs parthénogénétiques du *Chermes strobilobius* Kltb., Blochmann annonce dès à présent que dans les œufs normalement non fécondés et destinés à donner naissance à des femelles parthénogénétiques, il ne se forme qu'un globule polaire.

Une Tenthrédine, *Emphytus grossulariae* Klg., a fourni à l'auteur des œufs accidentellement non fécondés, dans lesquels il croit, mais sans en être encore absolument sûr, avoir observé deux globules polaires.

Blochmann considère cette dernière observation comme devant être confirmée; il se propose en outre de pousser plus loin ses observations sur les *Chermes* qui constituent un bon matériel pour l'étude d'œufs non fécondés donnant naissance à des mâles et à des femelles, afin de s'assurer définitivement s'il n'y a pas une relation entre les sexes et le nombre des globules polaires.

De notre côté, dès le début de nos recherches, nous avions songé, il y a près de deux ans, à nous adresser à des cas de parthénogénèse non encore examinés au point de vue de la maturation des œufs, pensant qu'ils pourraient jeter de la lumière sur la question. C'est ainsi que nous avons fait tous nos efforts pour arriver à nous procurer des pontes parthénogénétiques d'une espèce de Tenthrédine, *Eriocampa ovata* Linn., dont le mâle est totalement inconnu, et que l'on a pu reproduire de nombreuses années de suite, sans accouplement; mais les pluies persistantes de 1888 ont été extrêmement défavorables à cet insecte qui s'est montré fort rare, alors qu'il est généralement commun dans nos aulnaies, et cette malchance semble s'étendre à cette année encore.

Nous nous proposions également de tenter des recherches sur une espèce de Cynipide offrant l'alternance d'une génération parthénogénétique unique avec une génération sexuée. A cet effet, nous avions choisi la forme agame *Aphilothrix radicis* Fab., donnant naissance à l'*Andricus noduli* Hartig, comme aisée à se procurer : les galles, très caractéristiques, sont communes au pied des chênes, et l'on en obtient, avec un peu de soin, l'habitant. Mais pour faire pondre celui-ci, il faut une installation spéciale, semblable à celle qu'Adler a employée dans ses célèbres recherches, et nos voyages nous ont jusqu'ici empêché de la réaliser.

Nos études sur l'*Asplanchna Sieboldii* et sur les Pucerons vivipares viennent se ranger à côté de celles de Weismann et Ischikawa et de Blochmann (Phyllopodes, Rotifères, Aphidiens, Chermes, Ostracodes) pour arriver à la même conclusion que ces auteurs : *dans le cas de multiplication réitérée au moyen d'un œuf ne recevant point de spermatozoïde, il n'y a formation que d'un seul globule polaire.*

Des recherches de Blochmann (*Apis mellifica, Emphytus grossulariae*) et de Platner (*Liparis dispar*), il résulterait qu'au contraire, *dans le cas de parthénogénèse facultative et accidentelle, il y a formation de deux globules polaires.*

Il semble que ce soit décidément là la formule d'une « Zahlengesetz » des globules polaires dans les cas de reproduction sans accouplement.

INDEX CHRONOLOGIQUE

DES TRAVAUX RELATIFS A LA MATURATION DE L'ŒUF PARTHÉNOGÉNÉTIQUE.

1. **A. Weismann.** — *Richtungskörper bei parthenogenetischen Eiern.* — Zool. Anzeiger, IX, p. 570, 1886.

2. **F. Blochmann.** — *Ueber die Richtungskörper bei Insekteneiern.* — Biol. Centralbl., VII, 1887.

3. **A. Weismann u. C. Ischikawa.** — *Ueber die Bildung der Richtungskörper bei thierischen Eiern.* — Bericht. d. naturf. Gesells. z. Freiburg i. B., III, p. 1, 1887.

4. **A. Weismann.** — *Ueber die Zahl der Richtungskörper und über ihre Bedeutung für die Vererbung.* — Iena, 1887.

5. **F. Blochmann.** — *Ueber die Richtungskörper bei Insekteneiern.* — Morphol. Jahrb., XII, p. 544, 1887.

6. **F. Blochmann.** — *Bemerkungen zu den Publicationen über die Richtungskörper bei parthenogenetisch sich entwickelnden Eiern.* — Morphol. Jahrb., XIII, p. 654, 1888.

7. **A. Weismann.** — *Das Zahlengesetz der Richtungskörper und seine Entdeckung.* — Morphol. Jahrb., XIV, 1888.

8. **A. Weismann u. C. Ischikawa.** — *Weitere Untersuchungen zur Zahlengesetz der Richtungskörper.* — Zool. Jahrb., III, p. 575, 1888.

9. **F. Blochmann.** — *Ueber die Richtungskörper bei unbefruchtet sich entwickelnden Insekteneiern.* — Verhandl. d. naturh.-med. Ver. z. Heidelberg, N. F., IV, H. 2, Gesammtsitz am 1. Juni 1888.

10. **G. Platner.** — *Die erste Entwickelung befruchteter und parthenogenetischer Eier von* Liparis dispar. — Biol. Centralbl., VIII, p. 521, 1888.

11. **F. Blochmann.** — *Ueber die Zahl der Richtungskörper bei befruchteten und unbefruchteten Bieneneiern.* — Morphol. Jahrb., XV, p. 85, 1889.

III.

CONSIDÉRATIONS THÉORIQUES ET CONCLUSIONS.

L'étude de la maturation des œufs parthénogénétiques fut mise pour la première fois à l'ordre du jour de la science par la séduisante théorie des gonoblastes de Sedgwick Minot (1) : l'auteur américain considérait les globules polaires comme représentant des éléments qui devaient être éliminés de l'œuf pour être remplacés par le spermatozoïde; dans le cas de parthénogénèse, ils ne seraient pas expulsés. Après lui Balfour (2) et Éd. Van Beneden (3) émirent des hypothèses analogues; les faits absolument remarquables observés chez l'*Ascaris megalocephala* par Éd. Van Beneden semblaient même apporter une très forte présomption à l'appui de sa manière de voir : de telle sorte qu'il y avait lieu d'espérer que la connaissance des phénomènes de maturation de l'œuf parthénogénétique allait élucider définitivement et la question de la signification des globules polaires, et celle de cette

(1) Ch. Sedgwick Minot, *On the formation of the germinal layers, and the phenomena of impregnation among animals.* — Proceed. Boston Soc. Nat. Hist., XIX, p. 165, 1877.

Id., *A Sketch of comparative Embryology. (I. — The history of the Genoblasts, and the Theory of Sex.)* — Amer. Natural., XIV, p. 96, 1880.

Id., *Theorie der Gonoblasten.* — Biol. Centralbl., II, p. 365, 1883.

(2) F. M. Balfour, *On the phenomena accompanying the maturation and impregnation of the ovum.* — Quart. Journ. of Micr. Science, n. ser., XVIII, p. 109, 1878.

(3) Éd. Van Beneden, *Recherches sur la maturation de l'œuf, la fécondation et la division cellulaire.* — Archives de Biologie, 1883.

forme si insolite de reproduction, objet de tant de polémiques stériles, à laquelle on a donné le nom de parthénogénèse.

Occupons-nous d'abord des globules polaires.

Notre intention n'est point de faire ici l'historique des découvertes concernant la disparition de la vésicule germinative et la formation des corps directeurs : ce serait sortir du cadre du sujet, et nous ne pourrions d'ailleurs que traduire la minutieuse et excellente étude que Mark (1) en a faite. Nous ne copierons point non plus les deux listes que Weismann et Ischikawa (2) ont successivement données de tous les cas où l'expulsion des globules polaires a été constatée avec certitude, listes publiées trop récemment pour qu'elles demandent à être complétées. Après avoir indiqué les grandes étapes de l'histoire de la découverte des globules polaires, nous examinerons successivement les idées qui ont été émises à leur égard, à la suite de la connaissance de la maturation des œufs fécondés; nous confronterons les hypothèses avec les faits, cherchant à y démêler la vérité; nous verrons enfin quelle lumière les phénomènes observés dans les œufs parthénogénétiques peuvent répandre sur la question.

On attribue la découverte des globules polaires à Carus (3),

---

(1) E. L. Mark, *Maturation, fecundation and segmentation of* Limax campestris *Binney*. — Bull. Mus. Comp. Zoology, VI, p. 173, 1881.

(2) A. Weismann & C. Ischikawa, *Ueber die Bildung der Richtungskörper bei thierischen Eiern*. — Bericht. d. naturf. Gesells. z. Freiburg i. B., III, p. 1, 1887.

Id., *Weitere Untersuchungen zur Zahlengesetz der Richtungskörper*. — Zool. Jahrb., III, p. 575, 1888.

(3) C. V. Carus, *Von den aüssern Lebensbedingungen der weiss- und kaltblütigen Thiere. Eine Preisschrift. Nebst zwei Beilagen über Entwickelunggeschichte der Teichhornschnecke, und über Herzschlag und Blut der Weinbergsschnecke und des Flusskrebses*. — Leipzig, 1824. Cité par Mark.

mais c'est P.-J. Van Beneden ([1]) qui constata le premier leur sortie du vitellus.

Fr. Müller ([2]) attira sur eux l'attention, et, leur attribuant une influence sur la direction des premiers plans de segmentation, leur donna le nom de *Richtungsbläschen*, les considérant comme des vésicules creuses; Rathke ([3]) combattit ces deux opinions, mais ce fut seulement beaucoup plus tard que Flemming, vu qu'ils sont solides, leur imposa la dénomination de *Richtungskörper*, qu'ils portent aujourd'hui en Allemagne ([4]). En France et en Angleterre, ils sont au contraire connus sous le nom de globules polaires, que leur a donné Robin ([5]).

C'est à Lóven ([6]) que l'on doit d'avoir pour la première fois reconnu leur relation avec la vésicule germinative : le célèbre Suédois y voyait l'expulsion du nucléole; vingt-huit ans après seulement, Bütschli ([7]) confirma le fait, mais crut que les corps directeurs représentent la vésicule germinative éliminée de l'œuf sous forme de fuseau.

([1]) P. J. Van Beneden, *Recherches sur le développement des Aplysies.* — Bull. Acad. Brux., VII, p 239, 1840.

([2]) Fr. Müller, *Zur Kenntniss der Furchungsprocess im Schneckeneie.* — Arch. f. Naturg., Jahrg. XIV, I, p 1, 1848.

([3]) H. Rathke, *Zur Kenntniss der Furchungsprocess im Schneckeneie.* — Arch. f. Naturg., Jahrg. XIV, I, p. 157, 1848.

([4]) W. Flemming, *Ueber die ersten Entwickelungerscheinungen am Ei der Teichmuschel.* — Arch f mikr. Anat., X, p. 257, 1874.

([5]) C. Robin, *Mémoire sur les globules polaires de l'ovule.* — Journ. Physiol. de Brown-Séquard, V, p. 149, 1862.

([6]) S. L. Lóven, *Bidrag till Kännedomen om utvecklingen af Mollusca Acephala Lamellibranchiata.* — K. Vetensk. Akad. Handl., 1848, p. 329; Arch. f. Naturg., Jahrg. XV, I, p. 312, 1849.

([7]) O. Bütschli, *Vorläufige Mittheilung über Untersuchungen betreffend die ersten Entwickelungsvorgänge im befruchteten Ei von Nematoden u. Schnecken.* — Zeitschr. f. wiss. Zool., XXV, p. 201, 1875.

Les belles recherches de O. Hertwig (¹) et de Fol (²) vinrent bientôt donner la véritable signification du phénomène, et il fut dès lors généralement admis que les globules polaires prennent naissance par division indirecte de la vésicule germinative.

O. Hertwig, le premier, compara leur expulsion à une division cellulaire, ou plutôt à un phénomène de bourgeonnement.

On possédait enfin une base positive pour hasarder des hypothèses sur la signification de ces éléments, mais les opinions furent très partagées ; le seul point sur lequel tout le monde fut d'accord, c'est que leur formation n'est pas déterminée par la fécondation : ils sont, en effet, chez les Échinodermes, expulsés avant la pénétration du spermatozoïde.

Il y a lieu de se demander si les *Richtungskörper* ont une fonction physiologique, de déterminer quelle est leur valeur morphologique, de rechercher leur origine phylogénétique. C'est dans cet ordre que nous examinerons les trois points de vue auxquels on peut les considérer.

Nous commençons par le point de vue physiologique, car c'est celui qui s'imposa exclusivement aux embryologistes à l'aurore de la découverte des globules polaires. Sur cette base ont été établies plusieurs théories, mais elles ont toutes une idée fondamentale commune : elles considèrent les globules

---

(¹) O. Hertwig, *Beiträge zur Kenntniss der Bildung, Befruchtung und Theilung des thierischen Eies*. Zweiter Theil. — Morphol. Jahrb., III, p. 1, 1877.

(²) H. Fol, *Recherches sur la fécondation et le commencement de l'hénogénie chez divers animaux*. — Mém. Soc. de Phys. et d'Hist. nat. Genève, XXVI, p. 89, 1878-79.

polaires comme des produits éliminés de l'œuf; seulement pour les uns cette expulsion est en rapport avec le développement embryonnaire, pour les autres, elle est liée à la fécondation.

Nous ne ferons que citer pour mémoire les opinions entrant dans la première catégorie, tout ce que l'on sait du phénomène les réfutant immédiatement.

C'est d'abord celle de Fr. Müller (loc. cit.), que nous avons déjà mentionnée, et qui s'appuie sur un fait incontestable, la formation des globules polaires en un point déterminé de l'œuf, mais en lui attribuant un but physiologique, alors qu'il n'est qu'une conséquence de la promorphologie ovulaire.

Rabl (1) avança une hypothèse étrange, fondée en partie sur des faits erronés, à savoir que les globules polaires seraient des balles élastiques servant à empêcher la pression de la membrane vitelline contre l'embryon au pôle animal.

D'autres auteurs, moins explicites, les considérèrent comme de simples excréments de matières inutiles ou nuisibles au développement embryonnaire; Fol, entre autres (loc. cit.), leur donna le nom de *corpuscules de rebut,* mais resta dans le vague quant à leur signification.

Une opinion assez semblable à ces dernières, mais rentrant dans la catégorie des hypothèses qui mettent l'expulsion des globules en rapport avec la fécondation, est celle de von Ihering (2), qui voit dans le phénomène un moyen de niveler l'inégalité de grosseur entre les produits sexuels : la vésicule

---

(1) C. Rabl. *Ueber die Entwickelungsgeschichte der Malermuschel.* — Iena. Zeitschr. f. Naturw., X, p. 310, 1876.

(2) H. von Ihering, *Befruchtung und Furchung des thierischen Eies und Zellteilung* — Vorträge f. Thierärzte, herausg. von Pflug, Ser. 1, H. 4, 1878. Cité par Mark.

germinative serait réduite pour qu'elle ne transmette pas à l'embryon une quantité de substance plus considérable que ne peut le faire le noyau du spermatozoïde, de dimensions moindres.

Il est curieux de voir en ces derniers temps Strasburger [1] et Kölliker [2] émettre des idées semblables, et s'en tenir à cette obscure explication, malgré toute la lumière qui a été jetée sur la question depuis dix ans.

Nous arrivons ainsi insensiblement à cette trilogie d'hypothèses que l'on a l'habitude de réunir sous le nom de théorie Minot, Balfour, Van Beneden, hypothèses qui, tout en étant analogues au fond, diffèrent cependant l'une de l'autre par des points essentiels.

A Sedgwick Minot (loc. cit.) revient l'honneur d'avoir le premier eu l'intuition de ce que Éd. Van Beneden devait établir sur des faits, à savoir l'hermaphrodisme cellulaire. Il met en regard la maturation de l'œuf et la spermatogénèse, et compare l'œuf mûr à une cellule mère de spermatozoïdes : l'œuf mûr, hermaphrodite, puisqu'il provient d'un œuf fécondé, devient femelle en expulsant les globules polaires qui représentent sa partie mâle; la spermatogonie, également hermaphrodite, expulse sa partie mâle sous forme de spermatozoïdes, sa partie femelle subsistant comme cellule de déchet. Les globules polaires seraient donc des cellules mâles homologues aux spermatozoïdes et prendraient naissance de la même manière que ces derniers : s'il en est réellement

---

(1) Ed. Strasburger, *Neue Untersuchungen über den Befruchtungsvorgang bei den Phanerogamen als Grundlage für eine Theorie der Zeugung.* — Iena, 1884.

(2) A. Kölliker, *Die Bedeutung der Zellkerne für die Vorgänge der Vererbung.* — Zeitschr. f. wiss. Zool., XLII, p. 1, 1885.

ainsi, dans le cas de parthénogénèse ils ne doivent pas être expulsés.

A l'époque où Sedgwick Minot publia sa théorie, les données relatives à la spermatogénèse étaient encore fort précaires, de sorte qu'il ne faut pas lui en vouloir s'il établit son hypothèse sur un fait erroné : les spermatocytes naissent, en effet, par division intégrale de la spermatogonie, sans que celle-ci laisse un résidu comparable à l'œuf mûr.

Balfour (loc. cit.), indépendamment de Sedgwick Minot, arrive à des idées analogues, mais moins intéressantes, car il laisse dans l'ombre les phénomènes relatifs à la spermatogénèse. Il dit [1] : « I would suggest that in the formation of the » polar cells part of the constituents of the germinal vesicle, » which are requisite for its functions as a complete and inde- » pendent nucleus, is removed, to make room for the supply » of the necessary parts to it again by the spermatic nucleus. »

C'est l'hypothèse de Sedgwick Minot; seulement Balfour, relativement à la parthénogénèse, part des connaissances incomplètes de son temps pour émettre un avis assez malheureux. Il pense que « the function of forming polar cells » has been acquired by the ovum for the express purpose » of preventing parthenogenesis. » Il croit à l'inexistence des globules polaires chez les Rotifères et les Arthropodes, et fait la remarque que c'est précisément dans ces groupes que se rencontre exclusivement la parthénogénèse normale et fréquemment aussi la parthénogénèse accidentelle : ce mode de reproduction serait donc lié à l'absence de corps directeurs. On voit que Balfour arrive ainsi, en partant d'autres données, à la même conclusion que Sedgwick Minot.

---

(1) F. M. Balfour, *A treatise of comparative Embryology*. — Vol. I, 1880.

Avec Éd. Van Beneden (loc. cit.), nous sortons du domaine des pures hypothèses : c'est lui, comme l'a dit Waldeyer ([1]), qui doit être regardé comme ayant jeté les véritables bases de la notion de l'hermaphrodisme cellulaire. On sait que Éd. Van Beneden constate la présence de quatre chromosomes dans les blastomères de l'*Ascaris megalocephala :* le pronucléus femelle, reste de la vésicule germinative après l'expulsion des globules polaires, comme le pronucléus mâle, transformation du noyau du spermatozoïde, ne renferment au contraire chacun que deux de ces chromosomes; et, sans se fusionner, ils réunissent ces quatre éléments chromatiques en une plaque équatoriale qui, par division longitudinale des anses, forme les noyaux des deux premiers globes de segmentation. Chacun de ces noyaux est donc hermaphrodite, puisque deux de ses chromosomes proviennent du pronucléus mâle et les deux autres du pronucléus femelle; comme, d'autre part, dans la série des divisions subséquentes, les éléments chromatiques conservent, au moins en partie, leur individualité, tous les noyaux de l'organisme reçoivent une part de propriétés héréditaires de leurs ancêtres paternel et maternel. Mais, par rapport à ces noyaux, les deux pronucléi, ne renfermant chacun que deux chromosomes, n'ont que la valeur de demi-noyaux, quant à la quantité de chromatine qu'ils renferment : la fécondation est donc un phénomène de substitution dans lequel chaque pronucléus est complété pour reconstituer un noyau entier par l'autre; de sorte qu'il y a lieu de supposer que, dans le cours de leur évolution, les noyaux qui leur ont donné naissance ont dû subir une réduction de la moitié de leurs éléments chromatiques.

([1]) W. Waldeyer, *Ueber Karyokinese und ihre Beziehungen zu den Befruchtungsvorgängen.* – Arch. f. mikr. Anat., XXXII, p. 1, 1888.

Ce phénomène, nous devons le trouver par conséquent parallèlement dans l'ovogénèse et dans la spermatogénèse.

Dans leur étude sur la spermatogénèse chez l'*Ascaris megalocephala*, Éd. Van Beneden et Ch. Julin (1) ont découvert des faits qui militent en faveur de cette réduction. Les spermatogonies issues des spermatomères parcourent d'abord dans le testicule une région de formation dans laquelle elles se multiplient à la fois directement et indirectement. Il est en tous cas certain qu'elles subissent la cytodiérèse : les préparations montrent des figures dicentriques identiques à celles des blastomères. Les plaques équatoriales s'y trouvent constituées également de quatre anses chromatiques, mais on en voit aussi qui n'en renferment que trois ou deux. Mêlés aux spermatozoïdes, s'aperçoivent de petits corps particuliers, les globules ou corpuscules résiduels, formés d'un élément chromatique homogène entouré d'une zone hyaline. « On trouve fréquemment, au voisinage immédiat d'une » cellule montrant la plaque nucléaire à mi-distance entre les » centres des deux aster, un ou parfois même deux globules » résiduels. Dans ce cas la plaque ne renferme que trois et » parfois même deux anses chromatiques seulement, et les » globules résiduels, déjà bien reconnaissables, ont une masse » chromatique étirée en un boyau ou plus exactement en un » cordon qui ne se distingue en rien d'une des anses chromatiques du noyau voisin. Dans quelques cas nous avons vu » le globule pourvu de son anse chromatique encore engagé » dans la cellule. On trouve, d'autre part, toutes les formes » de transition entre les globules résiduels, tels que nous les

(1) Éd. Van Beneden & Ch. Julin, *La spermatogénèse chez l'Ascaride mégalocéphale.* — Bull. Acad. Belg., 3e sér., VII, p. 312, 1884.

» avons décrits plus haut, et les corpuscules pourvus d'une » anse chromatique que l'on rencontre çà et là au contact » immédiat des cellules en division ou même engagés dans » ces cellules. Il semble donc qu'il s'opère, au stade équato- » rial, une expulsion d'une partie de la chromatine nucléaire; » l'anse chromatique rejetée est immédiatement entourée » d'une couche de substance hyaline qui paraît dériver du » corps achromatique du noyau. Cette expulsion paraît se » faire dans le plan équatorial. »

Ajoutons que les spermatogonies, après avoir parcouru une région de maturation dans laquelle elles augmentent de volume sans se diviser, arrivent dans une région de multiplication où elles subissent de nouveau la karyokinèse, pour donner naissance aux spermatozoïdes : on constate alors que les plaques équatoriales ne renferment jamais plus de deux chromosomes.

Il semble donc que pour les gonocytes mâles la réduction de moitié de leur chromatine est manifeste : cette élimination se ferait au début de la spermatogénèse.

Pour les gonocytes femelles, Éd. Van Beneden place leur réduction nucléaire à la fin de la maturation de l'œuf, et la trouve dans l'expulsion des globules polaires.

« Dans l'hypothèse de l'hermaphrodisme des cellules, dit-il, » la parthénogénèse s'expliquerait si la formation des globules » polaires faisait défaut ou bien si ces éléments, après avoir pris » naissance, s'unissaient de nouveau au gonocyte femelle. »

Éd. Van Beneden est donc disposé à admettre pour les corps directeurs le même rôle physiologique que leur supposaient Minot et Balfour : il se fonde, et sur les phénomènes de la fécondation que nous venons de rappeler, et sur des considérations qui nous amènent à envisager les globules

polaires à un nouveau point de vue, celui de leur valeur morphologique.

A la suite de O. Hertwig (loc. cit.), les auteurs se trouvèrent généralement d'accord pour considérer les corps directeurs comme des cellules; Balfour lui-même les nomme « polar cells » et dit qu'il ne peut y avoir le moindre doute sur leur nature cellulaire; mais, pour être conséquent avec le rôle physiologique qu'il leur assigne, il ajoute qu'il est possible que le revêtement protoplasmique de ces éléments soit d'origine cœnogénétique : il serait dû à une influence attractive exercée par le noyau sur le protoplasme de l'œuf.

Éd. Van Beneden trouve dans l'étude de la maturation de l'œuf de l'*Ascaris megalocephala* des faits qui lui permettent d'avancer que les globules polaires ne sont point des cellules : ils seraient de nature purement nucléaire, et représenteraient par conséquent ces éléments qui doivent être expulsés de la vésicule germinative pour que celle-ci soit réduite à la valeur d'un pronucléus. Les considérations sur lesquelles se base le savant embryologiste sont de deux sortes : 1° l'élimination des corps directeurs se ferait par un procédé différent de la karyokinèse, par une pseudokaryokinèse; 2° la portion achromatique des globules est exclusivement originaire de la vésicule germinative.

Pour la première fois la genèse des globules polaires était scrutée dans sa nature intime, et si l'on s'en tient au mémoire de Éd. Van Beneden, on doit admettre pleinement ses conclusions.

Cependant Carnoy, étudiant peu de temps après la cytodiérèse de la vésicule germinative également chez l'*Ascaris megalocephala*, n'a pu confirmer les faits découverts par Éd. Van Beneden; il représente différemment la formation

des corps directeurs, et croit pouvoir la ramener à la karyokinèse normale ([1]).

Boveri ([2]) vient de donner l'explication de cette divergence de vues : tout ce que Éd. Van Beneden a figuré est parfaitement exact, et beaucoup de dessins de Carnoy le sont également; seulement les deux auteurs ont travaillé sur un matériel différent. Il se fait que l'*Ascaris megalocephala* présente deux variétés qui ne se distinguent l'une de l'autre que par le nombre des éléments chromatiques de leurs noyaux : ceux-ci renferment ou bien quatre, ou bien deux chromosomes.

C'est la forme à quatre anses que Éd. Van Beneden a eue entre les mains dans ses études sur la fécondation, mais c'est sur l'autre variété qu'il a fait en grande partie ses recherches concernant la maturation de l'œuf. Carnoy n'a eu à sa disposition, au contraire, que des Ascarides à quatre chromosomes : Boveri désigne ces derniers sous le nom de *typus Carnoy,* et il donne la dénomination de *typus Van Beneden* à l'autre race. Celle-ci offre malheureusement un matériel moins favorable à l'étude des globules polaires, ce qui explique comment Éd. Van Beneden n'a pu reconnaître que ceux-ci se forment par division indirecte. Dans le type Carnoy, le processus est plus visible : partant de cette variété, Boveri établit que dans l'un et l'autre cas la métamorphose de la vésicule germinative présente les caractères essentiels de la division karyokinétique, et qu'il y a lieu par conséquent de considérer les globules polaires comme des cellules.

([1]) J.-B. Carnoy, *La cytodiérèse de l'œuf : la vésicule germinative et les globules polaires de l'*Ascaris megalocephala. — La Cellule, II, p. 1, 1886.

([2]) Th. Boveri, *Zellen Studien* — Iena. Zeitschr. f. Naturw., XXI, p. 427, 1887; id., XXII, p. 685, 1888.

Il nous paraît d'ailleurs tout à fait impossible qu'un corps résiduel, ou d'une façon générale un élément qui n'aurait pas la valeur d'une cellule, puisse se multiplier par division indirecte : or, c'est le cas pour le premier globule polaire dont la karyokinèse a été constatée par Trinchese chez l'*Amphorina cœrulea* (1), par Blochmann chez *Neritina fluviatilis* (2) et chez divers Insectes (3); chez *Nephelis*, par O. Hertwig (loc. cit.), et même chez l'*Ascaris megalocephala*, par Carnoy.

Les belles recherches de Trinchese surtout nous semblent complètement démonstratives quant à la nature cellulaire des globules polaires : chez l'*Amphorina cœrulea* ils possèdent non seulement un revêtement protoplasmique bien reconnaissable à sa couleur verte, mais encore une couche hyaline analogue à celle qui entoure l'œuf.

S'il est prouvé chez une seule espèce que ces éléments sont des cellules, nous devons admettre le fait chez toutes : nous renverserons par conséquent la supposition de Balfour, et nous considérerons comme des cellules en voie de dégénérescence ces corps directeurs réduits, comme chez l'*Ascaris megalocephala*, à un élément nucléaire, ou ne sortant même pas du vitellus, comme c'est le cas chez les Hyménoptères, les Diptères et certains Lépidoptères. Par l'énorme variation que nous rencontrons dans leur aspect, ils réalisent bien le type d'organes rudimentaires dont Darwin a dit : « Rudi-

(1) S. Trinchese, *I primi momenti dell' evoluzione nei Molluschi*. — Atti R. Accad. dei Lincei, ser. 3, VII, p. 3, 1880.

(2) F. Blochmann, *Ueber die Entwickelung der* Neritina fluviatilis *Müll.*— Zeitschr. f. wiss. Zool., XXXVI, p. 125, 1881.

(3) F. Blochmann, *Ueber die Richtungskörper bei Insekteneiern*. — Morphol. Jahrb., XII, p. 544, 1887.

» mentary organs are very liable to vary in development
» and in other respects in the individuals of the same
» species. Moreover, in closely allied species, the degree
» to which the same organ has been reduced occasionnally
» differs much. »

Disons enfin que l'on a récemment découvert des globules polaires cellulaires chez les Batraciens (1) et les Élasmobranches (2), où l'on croyait qu'ils sont remplacés par d'autres productions ovulaires, et que nous possédons des préparations de l'œuf ovarien du Lapin faites six heures après le coït, montrant que chez les Mammifères c'est également par karyokinèse que se forme le premier corps directeur.

Les faits que nous venons d'alléguer nous semblent suffisants pour admettre que les globules polaires sont des cellules : nous allons d'ailleurs présenter d'autres considérations qui achèveront d'amener la conviction sur ce point capital.

Il ressort des études de Boveri (loc. cit.) que la vésicule germinative de l'œuf type Carnoy ne renferme que deux chromosomes; que celle de l'œuf type Van Beneden n'en renferme qu'un : dans l'une et l'autre variété de l'*Ascaris megalocephala,* avant la formation des globules polaires, l'élément nucléaire de l'œuf n'offre, comme les pronucléi, que la moitié du nombre des chromosomes qui existent dans les noyaux des blastomères : la vésicule germinative n'a donc que la valeur d'un demi-noyau; elle a déjà, avant que les corps directeurs soient éliminés, subi la réduction de la moitié

---

(1) O. Schulze, *Untersuchungen über die Reifung und Befruchtung des Amphibieneies* — Zeitschr. f. wiss. Zool., XLV, p. 177, 1887.

(2) Kastschenko, *Zur Entwickelungsgeschichte des Selachierembryos.* — Anatom. Anzeiger, III, n° 16, 1888.

de ses éléments chromatiques. Les globules polaires ne peuvent donc pas représenter cette portion de la vésicule germinative qui doit être expulsée pour être remplacée par le pronucléus mâle : ce sont des cellules issues de l'œuf par karyokinèse, et ne renfermant comme lui qu'un noyau réduit à la moitié du nombre des chromosomes qui caractérise les noyaux des tissus.

Nous ne pouvons donc admettre la théorie Minot, Balfour, Van Beneden, à laquelle s'est aussi rallié Sabatier (1) : force nous est de ne voir dans l'expulsion des globules polaires aucune particularité physiologique, et de n'accorder à ces éléments qu'une valeur morphologique.

Il va sans dire que cette détermination n'est point un motif pour nous faire repousser la théorie de la fécondation de Éd. Van Beneden, pas plus que nous ne saurions souscrire au singulier argument qu'ont invoqué contre elle Strasburger (2) et à sa suite Weismann (3), Hensen (4) et Waldeyer (5), argument qui repose sur un malentendu. Ces auteurs se coalisent pour rejeter l'hypothèse du remplacement, parce que le spermatozoïde aussi bien que l'œuf mûr peuvent transmettre des propriétés héréditaires de leurs ancêtres des

(1) M. H. Sabatier, *Contribution à l'étude des globules polaires et des éléments éliminés de l'œuf en général. (Théorie de la sexualité.)* — Montpellier, 1884. Cité par Giard.

(2) Ed. Strasburger, *Neue Untersuchungen über den Befruchtungsvorgang bei den Phanerogamen als Grundlage einer Theorie der Vererbung.* — Iena, 1884.

(3) A. Weismann, *Ueber die Zahl der Richtungskörper und über ihre Bedeutung für die Vererbung.* — Iena, 1887.

(4) Hensen, *Die Grundlagen der Vererbung nach dem gegenwärtigen Wissenskreis.* — Landwirthschaft. Jahrb, herausg. v. Dr Thiel, 1885, p. 731.

(5) W. Waldeyer, *Ueber Karyokinese und ihre Beziehungen zu den Befruchtungsvorgänge.* — Arch. f. mikr. Anat, XXXII, p. 1, 1888.

deux sexes. Mais nulle part Éd. Van Beneden n'a prétendu que la réduction du nombre des chromosomes constatée dans les pronucléi était qualitative : il n'a jamais eu l'idée que dans le spermatozoïde restent uniquement des chromosomes provenant de ses ancêtres paternels; que le noyau de l'œuf, au contraire, ne renferme que de la chromatine maternelle; il s'en est tenu strictement aux faits, lesquels montrent que les pronucléi ont subi une réduction quantitative.

L'impossibilité absolue d'homologuer les globules polaires aux corpuscules résiduels nous permet, au contraire, d'écarter cette anomalie qui ferait que la réduction du nombre des chromosomes dans les gonocytes se produirait à des moments différents de leur évolution : au commencement de la spermatogénèse, d'une part, et à la fin de la maturation de l'œuf, de l'autre.

Il existe, en effet, dans la formation des œufs et des spermatozoïdes un tel parallélisme, que nous sommes forcé d'admettre que la réduction de la vésicule germinative doit avoir eu lieu au début de l'ovogénèse, pendant cette phase comparable à la phase de formation des spermatogonies, dans laquelle se divisent les œufs primordiaux. Nous sommes persuadé que c'est là que devra être constatée l'expulsion des corpuscules résiduels des gonocytes femelles ([1]).

Ce parallélisme de la spermatogénèse et de l'ovogénèse va nous permettre encore de faire un pas de plus dans la connaissance des globules polaires : il jette une lumière étonnante sur leur signification morphologique.

([1]) Depuis la rédaction de ce Mémoire, nous avons eu l'occasion d'étudier l'ovogénèse de l'*Ascaris*, et nous avons découvert dans la portion capillaire de l'ovaire des corpuscules résiduels en tout semblables à ceux de la spermatogénèse (*Bul. Acad. Belg.*, 3e sér., XVIII, p. 712, 1889).

Nous pouvons, en effet, reconnaître trois étapes dans la production de l'une et de l'autre espèce de gonocytes : une phase de formation, une phase d'accroissement et une phase de multiplication.

Les cellules reproductrices passent d'abord par l'étape de formation dans laquelle d'une part prennent naissance, par division des spermatomères, les spermatogonies, d'autre part, aux dépens des œufs primordiaux, ce qu'on nomme les œufs non mûrs, qu'il conviendrait peut-être de désigner sous le nom d'*oogonies;* les gonocytes des deux sexes cessent alors de se diviser et subissent leur accroissement, en ce sens qu'ils augmentent de taille et se gorgent de matières nutritives; après quoi les spermatogonies se divisent pour donner les spermatocytes qui se transforment peu à peu en spermatozoïdes; quant aux oogonies, elles passent aussi par la phase de multiplication : *nous la trouvons représentée par la formation des globules polaires.*

L'œuf non mûr se divise d'abord en deux cellules, dont l'une est le premier globule polaire, et dont l'autre se divise encore pour donner le second globule et l'œuf mûr. Dans beaucoup de cas il a été constaté que le premier globule polaire se divise en deux globules secondaires : il est d'ailleurs presque toujours plus gros que le second, et les observations faites chez l'*Ascaris megalocephala* montrent que son noyau renferme une quantité de chromatine double de celle qui se trouve dans l'autre. Le premier globule polaire ne peut donc pas être considéré comme l'homologue du second : il doit être, comme l'a fait Boveri [1], mis sur la même ligne que

[1] Th. Boveri, *Ueber die Bedeutung der Richtungskörper.* — Sitzungsb. d. Gesell. f. Morph. u. Physiol. in München, II, p. 101, 1886.

l'œuf avant l'expulsion du second globule; ce dernier est comparable à l'œuf mûr et aussi aux deux cellules filles du premier. D'une oogonie procèdent donc quatre cellules : les deux globules polaires secondaires issus du premier globule primaire, le second globule primaire et l'œuf mûr. Or, ces quatre éléments ont évidemment la même valeur morphologique : ce sont quatre œufs mûrs, dont trois, à cause de l'inégalité de la division, sont considérablement réduits : *le second globule polaire et les deux cellules filles du premier peuvent être regardés comme des œufs avortés.*

Cette assertion, déjà soutenue en 1881 par Mark (loc. cit.), l'est maintenant par Boveri qui, dans ses préparations de l'*Ascaris megalocephala*, a trouvé une anomalie fort intéressante : c'est un œuf qui a l'air d'être divisé en deux blastomères, mais en réalité l'un des globes de segmentation renferme les deux pronucléi, et représente, par conséquent, l'œuf fécondé; l'autre montre le noyau du second globule polaire : ce corps directeur est donc ici exceptionnellement semblable à l'œuf et se montre sous sa signification primitive. Garnault ([1]) a également constaté que chez l'*Helix aspersa* la première cellule polaire peut être parfois accidentellement très grande.

L'expulsion des globules polaires est donc une division de l'oogonie en un certain nombre d'œufs, et est par conséquent comparable à la formation des spermatozoïdes.

Récemment Platner ([2]) vient, en appelant l'attention sur un fait déjà constaté par Boveri, de nous révéler une analogie

---

([1]) P. Garnault, *Sur les phénomènes de la fécondation chez l'*Helix aspersa *et l'*Arion empiricorum. — Zool. Anzeiger, XII, p. 731, 1888.

([2]) G. Platner, *Ueber die Bedeutung der Richtungskörper.* — Biol. Centralbl., VIII, p. 705, 1889.

encore plus étroite entre les deux phénomènes. Après l'expulsion du premier globule polaire, la portion de la vésicule germinative restée dans l'œuf ne se reconstitue pas à l'état de noyau au repos, c'est-à-dire qu'elle ne repasse pas par le stade *spirem* de Flemming (1) pour subir de nouveau la métakinèse ensuite : ses éléments chromatiques entrent directement en division karyokinétique pour former le second globule polaire, et il en est de même pour le noyau du premier globule lorsque celui-ci donne lieu à deux cellules.

Un phénomène identique a été constaté par Flemming (2), comme le rappelle Boveri, dans la division des spermatocytes de la Salamandre, et Platner (3) a découvert que chez les Lépidoptères, les spermatogonies se divisent en quatre spermatocytes sans que les noyaux entre cette double division rentrent à l'état de repos.

Chez l'*Ascaris megalocephala* c'est tout à fait la même chose, comme on peut s'en convaincre par la description de Éd. Van Beneden et Ch. Julin (loc. cit.) : chaque spermatogonie se divise sans repos nucléaire en quatre spermatocytes, absolument comme chaque œuf non mûr donne naissance à quatre cellules sans stade de *spirem* intermédiaire.

De même que, immédiatement après leur division, les quatre spermatocytes restent réunis en un spermatogemme, de même l'œuf mûr enfermé avec ses globules polaires dans les membranes périvitellines est un véritable *oogemme*.

---

(1) W. Flemming, *Zellsubstanz, Kern und Zelltheilung.* – Leipzig, 1882.

(2) W. Flemming, *Neue Beiträge zur Kenntniss der Zelle.* — Arch. f. mikr. Anat., XXIX, p. 389, 1887.

(3) G. Platner, *Die Karyokinese bei den Lepidopteren als Grundlage für eine Theorie der Zellteilung.* — Intern. Monatschr. f. Anat. u. Hist., III, p. 341, 1886.

L'homologie entre la formation des *Richtungskörper* et la division des spermatogonies serait donc absolument complète, n'était l'inégalité des cellules issues de l'oogonie; c'est certainement cette inégalité qui a été la cause de tant d'errements sur la nature des globules polaires; montrons qu'elle est non seulement utile, mais encore fatale.

Ainsi que l'ont avancé Mark et Boveri, il y a avantage pour la reproduction de l'organisme à ce que des gonocytes soumis, comme les spermatozoïdes, à toutes les vicissitudes d'une excursion en dehors de leur producteur, soient le plus nombreux possible : aussi tous les spermatocytes se développent-ils également.

Pour les œufs cet avantage est au contraire contre-balancé par une autre considération : ces gonocytes doivent renfermer une certaine quantité de matière nutritive nécessaire à l'évolution du futur embryon. Or, ce n'est pas sans beaucoup de frais que l'organisme produit des œufs, et c'est presque toujours aux dépens d'un certain nombre de gonocytes qui, sous forme de cellules nutritives, servent de pâture aux autres : arrivés à la fin de leur phase de maturation, les œufs perdraient donc, en se divisant en quatre, le bénifice d'une notable partie de l'effort que l'organisme a fait pour qu'ils arrivent à contenir la quantité de vitellus suffisante à leur développement; pour assurer l'existence embryonnaire, cet effort devrait être quatre fois plus considérable, et les oogonies devraient être quatre fois plus grosses. On conçoit de la sorte que dans le cours de l'évolution les gonocytes représentés par les globules polaires aient été sacrifiés peu à peu aux intérêts d'un œuf unique, et que leur formation ait été réduite autant que possible : jamais ils ne renferment de deutoplasme, et leur protoplasme est rudimentaire ou même nul.

Dans les œufs très volumineux, une division complète à la fin de la maturation serait physiquement impossible ; il se manifesterait dans la formation des globules polaires le même phénomène que nous offrent les œufs à segmentation partielle : les plans de séparation n'auraient pas la puissance de traverser toute la masse du vitellus, et la division resterait forcément superficielle. Dans de pareils gonocytes, l'avortement des cellules polaires est fatal ; s'il se produit également dans les œufs de petite taille, c'est que cette réduction leur est utile.

Des phénomènes nouveaux ont dû en outre apparaître dans l'œuf avec l'inégalité dans la division destinée à fournir les corps directeurs. C'est d'abord le voyage de la vésicule germinative à la périphérie du vitellus, puis un mécanisme spécial pour produire l'expulsion des globules polaires : le processus ordinaire de la division cellulaire est, en effet, insuffisant pour expliquer le bourgeonnement. Si nous supposons, en effet, une figure dicentrique de direction constituée, tout ce que pourra faire la contractilité des filaments achromatiques fixés à la sphère attractive distale sera d'amener les chromosomes à expulser contre la périphérie de l'œuf : il n'y aura aucune hernie du vitellus, et c'est sans doute ainsi que se forment ces globules polaires exclusivement nucléaires que nous offrent certains Insectes. Mais là où il y a véritable rejet, le mécanisme doit être plus compliqué, ce qui se traduit évidemment par un aspect différent des filaments achromatiques ou des fibrilles protoplasmiques : de là probablement les divergences observées par tant d'auteurs entre les figures de maturation et les fuseaux de division des blastomères. On pourrait peut-être expliquer de cette façon la figure ypsiliforme de Éd. Van Beneden et l'aspect spiralé que Mark a vu

dans l'œuf de la Limace. Il est, en effet, probable que ces dispositions doivent beaucoup varier et être en rapport avec la composition si diverse des œufs. Un de ces processus assez répandu est précisément cette poussée de toute la figure dicentrique de maturation que nous avons observée dans l'*Asplanchna Sieboldii*. Comme l'a dit Mark : « the amphiaster » certainly appears in this movement to be more acted upon » than acting », et ce mouvement est sans doute dû à l'activité du protoplasme ovulaire : Mark a, en effet, constaté que lorsque ce phénomène se produit, les fibrilles protoplasmiques fixées à la sphère attractive centrale deviennent énormément plus longues, et dans les figures de Trinchese, on les voit se prolonger jusqu'à la périphérie de l'œuf. Il est vraisemblable qu'elles se disposent de manière que, agissant comme autant de forces par leur contractilité, elles entraînent toute la figure dicentrique dans le sens de leur résultante, obligeant ainsi la sphère attractive distale et l'extrémité périphérique du fuseau à faire hernie sous forme de bourgeon du vitellus : le mécanisme ordinaire de la division de la cellule peut alors fonctionner.

Enfin, c'est par un phénomène cœnogénétique que le premier fuseau de maturation n'est point perpendiculaire au second, et c'est probablement un rappel du passé que sa position toujours primitivement tangentielle chez l'*Ascaris megalocephala*.

Ainsi expliquée dans ses causes et ses effets, la réduction des globules polaires nous semble ne plus pouvoir opposer une difficulté à ce que nous arrivions à cette conclusion définitive sur leur signification morphologique : *les globules polaires sont des cellules homologues à l'œuf mûr; leur formation est le rappel dans l'ovogénèse de la division des spermatogonies en spermatocytes dans la spermatogénèse.*

Nous possédons dans l'état actuel de la science suffisamment de données pour admettre qu'ils existent chez tous les animaux. Chez les végétaux, on peut leur comparer physiologiquement, comme l'a fait Strasburger ([1]), ces éléments qui représentent sans doute des œufs avortés, les *Kanalzellen* ou cellules du col des Ptéridophytes et des Gymnospermes, et les synergides des Angiospermes. Mais il n'y a pas lieu de les rechercher chez les organismes unicellulaires ([2]).

Weismann ([3]) a, le premier, appelé l'attention sur la fréquence des observations qui tendent à admettre que le nombre des globules polaires est de deux dans tous les œufs fécondés, et toutes les découvertes qui se font journellement en ce sens donnent raison à son hypothèse. Récemment cependant Tafani ([4]) a prétendu que dans la Souris il se formerait à volonté deux ou un seul corps directeur, mais cet auteur ne nous donne guère de détails sur ses observations : il se peut qu'il se soit trouvé à son insu en présence d'un phénomène semblable à celui que Boveri nous a révélé comme se passant souvent dans l'œuf de l'*Ascaris megalocephala,* phénomène sur lequel nous aurons l'occasion de revenir en détail plus loin, et qui produit l'expulsion d'un

---

([1]) Ed. Strasburger, *Neue Untersuchungen über den Befruchtungsvorgang bei den Phanerogamen als Grundlage für eine Theorie der Zeugung.* — Iena, 1884.

([2]) Nous laissons provisoirement de côté les Infusoires ciliés : la discussion des phénomènes karyogamiques offerts par ces organismes nous entraînerait trop loin, et nous préférons la réserver pour un autre travail.

([3]) A. Weismann & C. Ischikawa, *Ueber die Bildung der Richtungskörper bei thierischen Eiern.* — Bericht. d. naturf. Gesells. z. Freiburg i. B., III, p. 1, 1887.

([4]) A. Tafani, *I primi momenti dello sviluppo dei Mammiferi. Studi di morfologia normale e patologica eseguiti sulle uova dei topi.* — Rendiconti Acad. dei Lincei, V, p. 119, 1889.

seul globule polaire alors qu'il y a en réalité deux fuseaux de direction. Nous ne nous arrêterons donc pas à cette observation isolée, et nous admettrons que *dans tous les Métazoaires chaque œuf non mûr donne naissance à quatre cellules.*

Il est intéressant de rapprocher de cette notion le fait bien connu que chez les Nématodes les spermatogonies produisent toujours quatre spermatocytes, et qu'il en est de même chez les Lépidoptères, d'après Platner (loc. cit.). Chez la plupart des autres animaux, le nombre des spermatozoïdes issus d'une spermatogonie est beaucoup plus considérable, mais dans leur formation on peut toujours reconnaître un moment où ils forment également une tétrade : chez le Lombric [1], c'est à ce stade que le jeune spermatogemme quitte le testicule, et ce n'est que dans les vésicules séminales qu'il subit, par multiplication progressive de ses quatre cellules primordiales, une évolution ultérieure. Il semble donc que ce dernier phénomène ne soit que secondaire et que la division en quatre qui se manifeste chez les Nématodes soit fondamentale. *Chez tous les Métazoaires par conséquent les gonocytes des deux sexes procéderaient originairement de leurs cellules mères par tétrades :* ce phénomène subsiste pour les œufs et également pour quelques spermatogonies ; mais, dans beaucoup de gonocytes mâles, l'utilité qu'il y a pour l'organisme à multiplier les spermatozoïdes a produit une division cœnogénétique des spermatocytes.

Il serait peut-être utile de faire remarquer ici que chez les Floridées, les Bryophytes, les Ptéridophytes et les Phanéro-

---

[1] Bloomfield, *On the development of the Spermatozoa.* Part I, *Lumbricus.* — Quart. Journ. of Micr. Science, n. ser., XX, 1880.

games, les *spores* naissent également sans exception par division tétraédrique, que nous ayons affaire à des isospores, à des hétérospores, à des grains de pollen ou au sac embryonnaire avec les sacs embryonnaires secondaires. La réduction de ces derniers nous paraît offrir réellement dans le règne végétal un phénomène comparable à l'expulsion des globules polaires, et, dans les macrosporanges des Cryptogames vasculaires hétérosporés, l'avortement de trois spores au profit d'une seule rend encore l'analogie plus étroite.

Quoi qu'il en soit d'ailleurs de la loi que nous avançons ici à titre d'hypothèse, il est certain que la formation des corps directeurs et la multiplication des spermatogonies sont un phénomène d'une importance capitale, puisque probablement chez aucun animal il n'a été supprimé par l'évolution.

Nous nous demanderons par conséquent ce que signifie cette division des oogonies et des spermatogonies *in extremis.*

Il semble que l'on ne peut trouver l'explication du phénomène que dans l'origine du type Métazoaire, et nous nous rencontrons par conséquent ici avec ceux qui ont considéré les globules polaires au troisième et dernier point de vue sous lequel on peut les concevoir, le point de vue phylogénétique.

Giard [1], le premier, a émis l'avis que la formation des cellules directrices représenterait dans la vie de l'œuf la reproduction agame que subissent les Protozoaires avant leur conjugaison. Presque en même temps et d'une façon indépendante, Whitman [2] avançait la même opinion, voyant

[1] A. Giard, *L'œuf et les débuts de l'évolution.* — Bull. Scient. Dép. Nord, nº 12, p. 252, 1876.

[2] C. O. Whitman, *The Embryology of Clepsine.* — Quart. Journ. of Micr. Science, n. ser, XVIII, p. 215, 1878.

dans l'expulsion des globules polaires « a relic of the primi- » tive mode of asexual reproduction », et Flemming (1) s'est rangé à cette dernière manière de voir.

Cette idée un peu vague a entre autres mérites celui d'assigner aux *Richtungskörper* leur véritable valeur morphologique.

Après eux Bütschli (2) a fait, en se basant sur des considérations phylogénétiques, l'hypothèse fort remarquable et universellement connue, à laquelle se rallie aujourd'hui O. Hertwig (3), et qui est probablement bien près de la vérité.

« Nur auf der Basis der uns von den noch existierenden » einfachsten Organismen dargebotenen primitiven Erschei- » nungen der geschlechtlichen Fortpflanzung, können wir » uns zu einem Verständniss der entsprechenden Vorgänge » in der höher Organismenwelt erheben », dit Bütschli, et le savant naturaliste est parvenu à appliquer aux globules polaires ce principe si juste d'une façon extrêmement heureuse. On sait qu'il est, en effet, arrivé à établir sur cette base qu'ils représentent des œufs avortés, que leur formation est analogue à la division des spermatogonies, conclusions auxquelles d'autres ont abouti par des voies différentes, enfin que cette multiplication ultime des gonocytes est le rappel d'un phénomène morphologique qui existe chez certaines colonies de Protistes.

Faisant nôtre l'hypothèse de Bütschli, nous l'exposerons

(1) W. Flemming, *Ueber Bauverhältnisse, Befruchtung u. erste Theilung der thier. Eizelle.* — Biol. Centralbl., III, p 641, 1884.

(2) O. Bütschli. *Gedanken über die morphologische Bedeutung der sogenannten Richtungskörperchen* — Biol. Centralbl., IV, p 5, 1884.

(3) O Hertwig, *Lehrbuch der Entwickelungsgeschichte des Menschen und der Wirbelthiere.* Zweite Auflage. — Iena, 1888.

en la complétant au moyen des résultats morphologiques auxquels nous sommes arrivé jusqu'ici.

Dans les Mastigophores du groupe des Volvocinées, l'évolution des cellules constituantes des colonies est absolument analogue à celle des gonocytes chez les Métazoaires.

Elles passent, en effet, également par les trois phases que nous avons reconnues dans l'histoire des éléments reproducteurs. Au sortir de l'œuf, elles se divisent d'abord pour constituer la colonie, phase de formation; toutes ou partie d'entre elles grossissent ensuite pour constituer les cellules mères des gamètes, phase d'accroissement; elles se divisent enfin une dernière fois, et c'est ce phénomène qui est représenté chez l'animal par la formation des spermatocytes et l'expulsion des globules polaires.

Chez les Volvocinées, cette division est variable : dans *Pandorina* chacune des cellules donne naissance à huit cellules filles qui forment des zoospores isogames; mais déjà chez *Chlamydomonas pulvisculus* il y a à distinguer des cellules qui ne donnent que quatre macrogonidies et d'autres qui se divisent en huit microgonidies, la reproduction étant ici hétérogame. Dans *Volvox globator,* la différenciation sexuelle est poussée plus loin encore : un certain nombre de cellules semblent subsister telles quelles et constituent des oosphères; les autres, au contraire, se divisent en nombreux anthérozoïdes. Enfin *Volvox minor* et *Eudorina elegans* nous offrent des colonies dioïques.

Chez les Métazoaires, la division se fait en quatre pour tous les gonocytes femelles, et il est bien probable qu'elle est originairement la même dans les spermatogonies. Si l'on admet, et tout nous y autorise, que le type Métazoaire descend d'une colonie de Protozoaires dont la structure fonda-

mentale était semblable à celle des Volvocinées, nous pouvons faire l'hypothèse que cette colonie était isogame et que toutes ses cellules reproductrices se divisaient en tétrades. Ultérieurement s'est montrée une différenciation en gamètes mâles et femelles, une seule macrogonidie évoluant aux dépens des trois autres transformées en globules polaires, et le type Métazoaire était probablement déjà constitué lorsque s'est produite, en sens divers, une multiplication secondaire des microgonidies, comme chez les *Volvox.*

Il en résulte que la formation des *Richtungskörper* doit exister dans tous les œufs, puisqu'elle est le rappel d'une particularité fondamentale de la structure de la colonie de Protistes qui a donné naissance au Métazoaire, et elle ne peut être supprimée, pas plus que ne sont supprimées dans les macrosporanges les divisions de la cellule mère qui donnent naissance à des spores rudimentaires. Si les *Volvox* et les *Eudorina* descendent de colonies isogames où les gamètes se divisaient, le noyau de leurs oosphères doit se diviser avant la fécondation pour produire des globules polaires.

Nous avons pu comparer l'évolution d'un gonocyte à celle d'une gamète de Volvocinée : cette évolution n'est à son tour que la copie de l'existence du plus humble Flagellate. *Euglena viridis,* par exemple, passe en sa vie par les trois phases caractéristiques de la formation des cellules reproductrices : elle se divise d'abord un certain nombre de fois, puis, après s'être bien repue, elle s'enkyste et se multiplie dans ce kyste, auquel est comparable une colonie de gamètes de Volvocinées et par conséquent aussi l'oogemme, l'œuf mûr emprisonné dans sa membrane avec ses globules polaires.

Nous retombons ainsi sur l'hypothèse de Giard, Whitman et Flemming, que nous allons encore éclairer d'autres considérations.

Le Protiste, en s'enkystant, s'isole du monde ambiant et dès lors n'en reçoit plus de principes nutritifs : la formation de la membrane vitelline est préliminaire à l'expulsion des globules polaires et met un terme à l'accroissement de l'œuf. De même, les spermatogonies cessent de grandir à partir du moment où elles vont se diviser : et, au fur et à mesure de leur multiplication, les spermatocytes diminuent de taille, leur noyau devenant aussi de plus en plus petit, d'énorme qu'il était dans la spermatogonie mûre. Il semble y avoir, comme dans un kyste, une égale répartition de substance entre toutes les cellules filles.

Si nous nous en rapportons encore à l'*Ascaris megalocephala,* chez lequel les faits ont été constatés d'une façon inattaquable, nous voyons qu'aussi bien dans le noyau de la spermatogonie que dans la vésicule germinative il se fait, pendant la phase d'accroissement une accumulation progressive de chromatine, de telle façon qu'au moment de la division de ces éléments les chromosomes ont une forme toute particulière : *ils renferment, préformée, toute la quantité de chromatine à répartir soit dans l'œuf et les globules polaires, soit dans les quatre spermatocytes.*

Cette chromatine se distribue par karyokinèse également à toutes les cellules filles, sans que les nouveaux noyaux se reconstituent à l'état de repos, comme l'a fait remarquer Platner ; mais nous pouvons ajouter que pas plus dans les spermatozoïdes que dans les globules polaires les éléments nucléaires ne reprennent l'aspect spongieux qu'ils possèdent dans les blastomères.

Seul le noyau de l'œuf plongé dans le vitellus, et le noyau de ces globules polaires qui, chez les Fourmis, les Abeilles et la Mouche, ne sortent point du vitellus, repassent par le stade

de *spirem :* quant au noyau du spermatozoïde, il ne rentre à l'état de repos que s'il a pénétré dans l'œuf et s'est mis en contact avec le vitellus en abandonnant même son enveloppe protoplasmique.

Or, que représente ce vitellus de l'œuf chargé de deutoplasme pour le spermatozoïde qui y a pénétré, et par extension pour le noyau de l'œuf et ces noyaux des globules polaires particuliers précités, si ce n'est le milieu nutritif extérieur dont les oogonies et les spermatogonies avaient été séparés avant leur division?

Pendant toute la période de multiplication des gonocytes, il n'y a eu aucune nutrition cellulaire, et leur division n'a pu avoir lieu qu'à la faveur de la préformation de toute la chromatine.

Les chromosomes ont subsisté tels quels au stade de la métakinèse : la vie des éléments reproducteurs a véritablement été latente, comme s'ils avaient été renfermés dans un kyste, et elle ne se réveille qu'au moment où le kyste vient à être brisé, c'est-à-dire quand ils reçoivent de nouveau l'apport de substances nutritives venant de l'extérieur et représentées par le deutoplasme.

L'enkystement des Protistes est-il précédé d'un accroissement de la quantité de chromatine de leur noyau dont la division se fait sans que les noyaux des cellules filles rentrent au stade de repos avant la rupture du kyste? En est-il de même pour les gamètes des Volvocinées? C'est ce qui est très probable.

Nous trouvons en effet que les cellules mères des spores végétales, qui s'isolent comme les gonocytes du milieu ambiant, renferment, également préformés, tous les chromosomes qu'elles répartissent entre leurs cellules filles sans qu'il

y ait un stade de repos intermédiaire : les anses subsistent telles qu'elles sont issues de la métakinèse et ne se gonflent pas de manière à disperser leurs éléments chromatiques sous forme de microsomes avant que la tétrade soit constituée. Il suffit pour s'en convaincre de jeter un coup d'œil attentif sur les dessins nombreux que les botanistes nous ont donnés du phénomène [1] : la division des cellules mères des grains de pollen est particulièrement démonstrative à cet égard.

L'expulsion des globules polaires, la division des spermatogonies, la formation des spores végétales et sans doute aussi la division d'un Protiste enkysté présentent donc des caractères communs; au lieu que dans la karyokinèse ordinaire les anses primaires se divisent longitudinalement en anses secondaires, la formation des noyaux de ces éléments est différente : *elle consiste en une répartition égale d'anses primaires préformées.* Ces anses peuvent n'être reliées au stade *spirem* que par des filaments chromatiques extrêmement ténus, comme dans la vésicule germinative de l'*Ascaris megalocephala,* ou bien elles peuvent être complètement séparées, comme dans les spermatocytes de la Salamandre et les grains de pollen.

C'est ce que Éd. Van Beneden a parfaitement pressenti en considérant la formation des globules polaires de l'*Ascaris megalocephala* comme une *pseudokaryokinèse,* nom qui mérite d'être conservé, et qui pourrait être étendu à la division de toute cellule qui a cessé d'avoir des rapports nutritifs avec le monde extérieur.

Nous comprenons maintenant comment il se fait que Flem-

---

(1) Ed. Strasburger, *Zellbildung und Zelltheilung.* Dritte Auflage. — Iena, 1880.

ming [1] ait dû représenter par des schémas différents de la karyokinèse ordinaire la division des spermatocytes de la Salamandre.

La forme *hétérotypique* consiste en une répartition de faisceaux d'anses primaires à des cellules qui doivent encore se diviser ultérieurement. C'est la pseudokaryokinèse de la vésicule germinative, de la spermatogonie, des spermatocytes destinés à donner plus d'une génération de spermatozoïdes, de la cellule mère des spores.

La forme *homœotypique* de Flemming est une pseudokaryokinèse consistant en une simple répartition d'anses primaires à des cellules qui ne se divisent plus avant de recevoir de nouveaux éléments nutritifs. C'est elle qui donne naissance à l'*Eikern*, au second globule polaire, aux spermatozoïdes, aux spores végétales.

Cela étant, on conçoit que la pseudokaryokinèse, qui n'est qu'une karyokinèse secondairement compliquée, puisse se présenter avec des caractères variables suivant la nature des éléments cellulaires, le nombre et la forme des chromosomes. Les faisceaux d'anses primaires pourront être combinés de façons très différentes; aussi concevons-nous parfaitement pourquoi, dans la formation des éléments reproducteurs, mais là seulement, Carnoy [2] ait observé des divisions transversales d'éléments chromatiques, et ait même vu des plaques équatoriales donner naissance à deux noyaux par simple répartition de la moitié de leurs chromosomes aux deux pôles, sans qu'il y ait eu division longitudinale. Seulement,

---

(1) W. Flemming, *Neue Beiträge zur Kenntniss der Zelle.* — Arch. f. mikr Anat., XXIX, p. 389, 1887.

(2) J.-B Carnoy, *La cytodiérèse chez les Arthropodes.* — La Cellule, I, 1884.

ces phénomènes variables ne peuvent plus être invoqués contre l'unité dans les caractères essentiels de la division cellulaire.

La pseudokaryokinèse établit une étroite relation entre la formation des gonocytes des animaux et celle des spores chez les végétaux : elle y rappelle très probablement l'enkystement des Protistes originels, et constitue sans doute une particularité de leur vie latente.

Mais pourquoi les chromosomes des gonocytes ont-ils une forme si différente des anses que l'on observe dans les noyaux des cellules ordinaires, phénomène que présentent aussi les figures karyokinétiques de formation des grains de pollen ? Ce sont les Infusoires qui nous permettent d'en découvrir la cause.

Chez ces Protistes, on trouve à la place du noyau deux éléments qui se comportent différemment en présence des matières colorantes : le micronucléus et le macronucléus. Maupas (1) nous a fait connaître qu'à la suite de la conjugaison, le macronucléus dégénère et disparaît dans le cytoplasme, le micronucléus en reformant un nouveau : la conjugaison s'accompagne donc d'un véritable rajeunissement.

On admet généralement que chez les autres organismes les noyaux représentent à la fois le micronucléus et le macronucléus des Infusoires : s'il en est ainsi, ils doivent donc renfermer deux substances équivalentes à celles des deux noyaux de ces organismes élémentaires, et l'on peut s'attendre à ce que les noyaux des gonocytes expulsent au moment de la fécondation celle de ces substances que le macronucléus renferme seul.

Or ces faits nous semblent acquis à la science, sans qu'il paraisse qu'on se soit douté de leur signification.

Partout où l'on a pu soigneusement étudier les chromo-

(1) Maupas, *Théorie de la sexualité des Infusoires ciliés.* — C. R. Acad. de Paris, CV, p. 356, 1887.

somes, on les a trouvés ayant une structure moniliforme provenant de ce qu'ils sont constitués de cordons dans lesquels apparaissent des grains qui prennent beaucoup plus fortement la matière colorante. La portion claire de ces cordons, dite « substance intermédiaire » par Éd. Van Beneden, représente fort probablement la substance spéciale au macronucléus, et les grains très avides de coloration les éléments qui chez les Infusoires résident dans le micronucléus.

Qu'est-ce alors que le cytophore des spermatocytes de l'*Ascaris* digéré par les cellules du canal déférent, excrément chromophile du noyau des gonocytes mâles?

Qu'est-ce encore que l'hyalosome de la vésicule germinative de l'*Ascaris megalocephala* dont une portion, comme l'a observé Éd. Van Beneden, est rattachée aux chromosomes de chaque globule polaire, et que nous retrouvons dans l'unique corps directeur des Pucerons?

Pour nous, la réponse à ces questions ne peut être douteuse: les noyaux des gonocytes expulsent avant la conjugaison une substance comparable à celle qui différencie le macronucléus des Infusoires et qui, comme celle-ci, est destinée à périr. Chez les êtres pluricellulaires, la fécondation s'accompagne donc également d'un phénomène de rajeunissement des noyaux.

Les chromosomes des gonocytes se colorent beaucoup plus fortement que les anses des noyaux des autres cellules de l'organisme, et ont une forme différente, plus ramassée, parce qu'ils sont incomplets et ne renferment plus celle des substances nucléaires qui se trouve seulement dans le macronucléus des Infusoires; ils reconstituent cette substance aux dépens du vitellus et reprennent dès lors la forme et la manière de se comporter vis-à-vis des colorants des éléments chromatiques ordinaires des cellules.

Ici nous nous arrêtons, car ce que nous pourrions dire

au delà ou bien sortirait de notre cadre, ou bien constituerait des hypothèses qui n'auraient guère pour elles une base de faits suffisante ; nous devons maintenant mettre en lumière les conséquences des résultats auxquels nous sommes arrivé.

Nous pouvons ramener l'existence d'une cellule quelconque de Métazoaire à la vie si simple d'un Protiste élémentaire : multiplication agame représentée par le développement embryonnaire, se continuant pour les cellules reproductrices dans la formation des oogonies et des spermatogonies ; enkystement et division, représentés par l'excrétion de la membrane vitelline, l'expulsion des globules polaires et la formation des spermatocytes ; conjugaison ou fécondation ; nouvelle multiplication agame.

Depuis un nombre infini de siècles chacune des cellules de nos tissus a passé un nombre incalculable de fois par ce cycle invariable, tantôt mâle, tantôt femelle, et elle continuera cette existence tant qu'elle ne deviendra point cellule somatique vouée à la mort et qu'elle s'unira à une autre aux échéances de la fécondation.

Il est très curieux de constater que l'existence d'une cellule de plante peut être ramenée au même cycle, à condition de placer à un autre moment la conjugaison.

On sait que chez les Protistes ce phénomène peut avoir lieu immédiatement après la sortie du kyste, et il en est ainsi des cellules reproductrices des animaux, mais également immédiatement avant cet enkystement, et c'est ce qui se présente primitivement dans la vie végétale.

Ces rapports peuvent être indiqués ainsi qu'il suit :

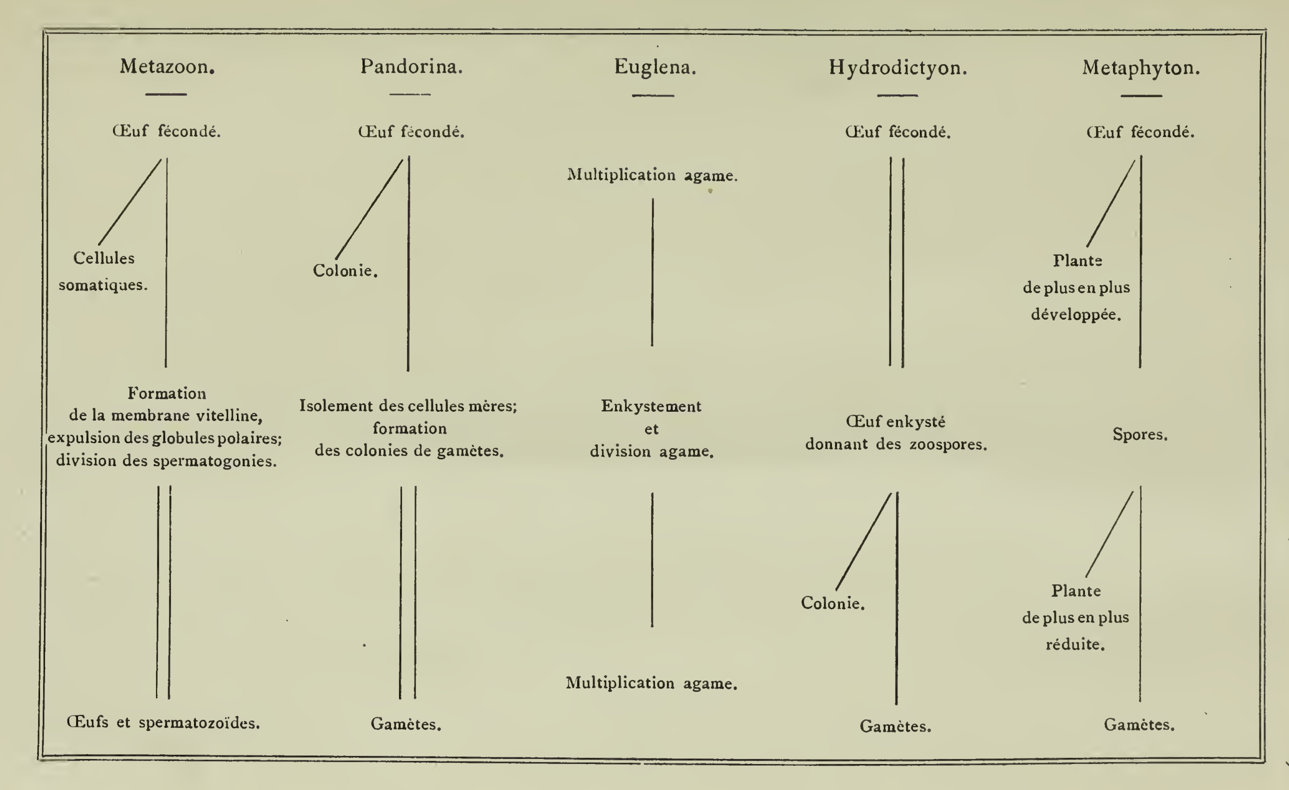
Animal. Fécondation.
V
Protiste : Multiplication. — Enkystement et division. — Multiplication.
Λ
Végétal. Fécondation.

En effet, ces Algues que l'on réunit parfois aux Volvocinées, les Hydrodictyées, nous offrent des colonies où le schéma de l'existence cellulaire des plantes se trouve dans toute sa pureté. Immédiatement après la fécondation, l'œuf s'enkyste et se divise en spores qui, par multiplication agame, donnent des colonies produisant des gamètes. Le même cycle se rencontre dans quantité d'Algues, principalement chez les Confervacées.

Ce mode de reproduction se conserve chez les plantes supérieures, Hépatiques et Mousses, Cryptogames vasculaires et Phanérogames; seulement chez ces végétaux s'accuse de plus en plus une altération du processus que montrent déjà les Floridées : l'œuf fécondé, au lieu de s'enkyster immédiatement, se multiplie activement par voie agame et donne naissance à une végétation sporifère, le Sporogone, la Fougère, etc., la plante fleurie, dont le développement dans l'évolution a été toujours croissant aux dépens de la plante primitive productrice de gamètes, mousse, prothalle, cellules végétatives du grain de pollen, cellules antipodes du sac embryonnaire.

Il se fait donc que le moment de la fécondation qui, dans le cycle de la vie reproductrice d'une cellule végétale, était primitivement placé immédiatement avant l'enkystement, arrive chez les Phanérogames presque immédiatement après la formation des spores, de manière à réaliser à peu près absolument ce qui existe chez les animaux. L'existence des Protistes engagés dans ces vastes associations qu'on appelle plantes et animaux est, au fond, identiquement la même, sauf que les cellules végétales ont deux chances au lieu d'une de devenir somatiques et d'être livrées à la mort.

Résumons tous ces rapports dans le tableau ci-contre où nous partons de l'œuf fécondé :


Metazoon.
Pandorina.
Euglena.
Hydrodictyon.
Metaphyton.
Œuf fécondé.
Œuf fécondé.
Œuf fécondé.
Œuf fécondé.
Multiplication agame.
Cellules somatiques.
Colonie.
Plante de plus en plus développée.
Formation de la membrane vitelline, expulsion des globules polaires; division des spermatogonies.
Isolement des cellules mères; formation des colonies de gamètes.
Enkystement et division agame.
Œuf enkysté donnant des zoospores.
Spores.
Colonie.
Plante de plus en plus réduite.
Multiplication agame.
Œufs et spermatozoïdes.
Gamètes.
Gamètes.
Gamètes.

On voit qu'au point de vue phylogénétique l'œuf et les globules polaires, comme les spermatozoïdes, sont comparables aux spores végétales, mais qu'ils ont la valeur physiologique des gamètes.

Chez les Métaphytes, les spores naissent sans exception en tétrades; il en est très probablement de même des spores-gamètes des Métazoaires : c'est en effet en se disposant en tétraèdre, solide qui présente le minimum de volume pour le maximum de surface, que des sphères peuvent le mieux remplir une autre sphère.

La position des quatre spermatocytes de l'*Ascaris megalocephala* trahit immédiatement l'enkystement ancestral de la spermatogonie; elle constitue avec la formation de la membrane vitelline et la double division de l'œuf la relique morphologique la plus antique et la plus remarquable peut-être de l'organisme.

La formation des globules polaires est donc un phénomène absolument essentiel qui peut même servir de criterium au type Métazoaire, en ce sens que s'il existe des êtres à épiblaste et hypoblaste dont l'œuf ne se divise pas deux fois successivement avant la conjugaison des pronucléi, ils ne peuvent pas être considérés comme animaux véritables, ou ne constituent pas un des jalons de la route suivie par l'évolution des organismes qui ont des muscles et des nerfs.

Chez tous ces derniers, l'œuf doit expulser deux *Richtungskörper,* et rien de tout ce que nous avons avancé jusqu'ici n'autorise à nous laisser supposer qu'il peut en être autrement dans un œuf qui n'est point fécondé et dont le pronucléus femelle évolue néanmoins solitairement en embryon; en d'autres termes, si l'opinion à laquelle nous sommes arrivé sur la nature des globules polaires est vraie, *la matu-*

ration de l'œuf parthénogénétique doit être identique à celle de l'œuf qui reçoit un spermatozoïde.

Cette conclusion logique de l'échafaudage que nous avons cherché à élever semble devoir être difficilement acceptée, étant donnés les faits observés et les opinions récemment exprimées à leur regard : passons d'abord celles-ci en revue, après quoi nous ferons l'interprétation des faits, et nous verrons que rarement exception aura eu mieux l'occasion de venir confirmer une règle.

Nous possédons deux théories émises sur les globules polaires à la suite de la connaissance de la maturation des œufs parthénogénétiques : l'une de Weismann, l'autre de Giard.

Weismann [1] a écrit une brochure sur la loi du nombre des corps directeurs, et, n'ayant point connaissance alors des découvertes récentes, il admet d'une façon absolue, comme point de départ de ses hypothèses, que dans l'œuf parthénogénétique il n'y a jamais qu'un seul globule polaire, l'œuf fécondé, au contraire, en expulsant toujours deux.

Bien que les considérant comme cellulaires, le savant professeur de Fribourg croit à une fonction physiologique des globules polaires, et, d'après la loi du nombre, il est obligé d'admettre que le premier a même une signification différente du second.

Pour Weismann, il y aurait dans le noyau de l'œuf deux sortes d'éléments : l'un, le plasme ovigène, qui caractérise l'œuf comme cellule et le différencie d'avec les autres cellules de l'organisme, et le plasma germinatif, support matériel

[1] A. Weismann, *Ueber die Zahl der Richtungskörper und über ihre Bedeutung für die Vererbung.* — Iena, 1887.

des tendances héréditaires qui font évoluer l'embryon. Weismann pense que le plasma ovigène doit être rejeté de l'œuf quand celui-ci est constitué, et avant que la loi du nombre ait été découverte par Blochmann, il croyait que les deux globules polaires représentent cet excrément ovulaire. Depuis, en présence de l'existence d'un globule polaire chez les Pucerons, les Daphnides et les Rotifères, il donne au second globule une autre signification. Cette nouvelle expulsion consisterait en une portion de la chromatine ancestrale rejetée pour faire place à la quantité de substance héréditaire apportée par le spermatozoïde, lequel aurait subi une réduction semblable; dans l'œuf parthénogénétique, le plasma germinatif subsisterait tel quel.

Nous dirons :

1° Qu'il est impossible d'admettre que des excréments soient des cellules qui se divisent par karyokinèse;

2° Qu'il n'y a aucun motif pour croire qu'une cellule doive, sous forme de plasma ovigène, rejeter ce qui dans son noyau lui a fait acquérir momentanément les caractères d'un œuf, attendu que nous voyons les organismes élémentaires passer par les formes les plus diverses sans jamais éprouver le besoin d'expulser un globule polaire : un Flagellate se change en amibe, s'enkyste, s'unit à un autre sans que pareil phénomène ait été constaté ou doive être découvert un jour;

3° Qu'il y a, au contraire, des raisons de penser que ce plasma ovigène doit être matériellement transmis à l'embryon avec tous les autres plasmas ancestraux, pour pouvoir héréditairement reproduire des œufs dans la suite;

4° Que l'expulsion d'une certaine quantité du plasma ancestral de l'œuf et du spermatozoïde avant la fécondation est sans doute un phénomène qui se produit réellement,

mais il doit s'accuser par le rejet de corps résiduels, et non par la formation du second globule polaire, la vésicule germinative étant réduite avant la maturation de l'œuf;

5° Que, d'après les observations de Boveri chez l'*Ascaris megalocephala,* les portions des chromosomes qui servent à former les noyaux des globules polaires sont identiques entre elles et à la partie restant dans l'œuf, et que, de plus, elles peuvent accidentellement se remplacer les unes les autres.

Nous croyons que ces arguments suffisent pour écarter l'hypothèse de Weismann, assurément très ingénieuse, mais dont la base elle-même, la *Zahlengesetz,* est déjà renversée par les faits; elle doit s'évanouir absolument d'ailleurs devant la véritable interprétation de la fameuse loi du nombre (1).

Il est difficile de comprendre qu'un esprit aussi subjectif que Giard (2) n'ait pas mis le doigt sur la complète vérité, alors que déjà, en 1876, il s'en était approché de bien près. Connaissant en effet les études de Blochmann sur les œufs des Abeilles, il maintient son ancienne opinion concernant les globules polaires, et avec infiniment de raison il déclare que dans la *parthénogénèse non prédestinée,* la véritable parthénogénèse accidentelle, il ne peut être question d'une maturation ovulaire différente de celle des œufs fécondés : il arrive même à prédire la découverte de Platner chez le

(1) Dans un travail paru le 16 décembre 1889, Weismann et Ischikawa, en présence des découvertes de Blochmann et de Platner, essaient de restaurer leur hypothèse, en supposant que chez le *Liparis dispar* et chez le mâle de l'Abeille, le « Keimplasma » réduit de l'œuf possède une énergie suffisante pour reconstituer ces organismes en se passant du spermatozoïde. (*Ueber die Paracopulation in Daphnidenei.* — Spengel's Zoolog. Jahrb., Abtheil. f. Anat., IV, p. 155, 1889.)

(2) A. Giard, *Sur la signification des globules polaires.* — Bull. scient. de la France et de la Belgique, sér. 3, II, p. 95, 1889.

Liparis dispar, mais relativement à la reproduction des Pucerons, des Rotifères et des Cladocères il avance une opinion que nous ne saurions admettre. La disparition d'un globule polaire chez ces organismes serait de nature cœnogénétique, et le résultat d'une condensation du développement sous l'influence d'une nutrition plus abondante : la simplification de l'ontogénie aurait pu influencer l'expulsion des globules polaires et s'y transmettre, attendu que ces œufs d'été ne sont jamais destinés à la fécondation.

Laissons un moment la dernière allégation de Giard, qui n'aura plus besoin de réfutation tout à l'heure, pour en venir aux faits et à la discussion de la signification de la parthénogénèse.

Comme l'a depuis longtemps fait remarquer von Siebold [1], il y a à distinguer la *wahre Parthenogenesis,* dans laquelle la non-fécondation n'est pas prédestinée, ainsi que le dit très bien Giard, de la reproduction estivale des Pucerons, des Daphnides et des Rotifères, qui restent forcément vierges puisque les mâles n'existent pas.

La parthénogénèse véritable, accidentelle, se rencontre chez le *Liparis dispar* et chez l'*Apis mellifica,* et dans les œufs vraiment parthénogénétiques de ces Insectes a été constatée avec certitude la présence de deux globules polaires. L'œuf se développe ici réellement sans fécondation.

Nous pouvons à ce sujet faire deux hypothèses : ou bien l'œuf vierge a réellement la valeur d'une gamète dont le nombre des chromosomes a été réduit de moitié pour faire place au demi-noyau du spermatozoïde, ou bien cette réduction n'a

---

[1] C. Th. von Siebold, *Wahre Parthenogenesis bei Schmetterlingen und Bienen.* — Leipzig, 1856.

pas eu lieu, et l'œuf acquerrait ainsi secondairement les caractères d'une véritable spore à noyau complet, qui pourrait être comparée aux macrozoospores agames des Algues.

Il est à peu près certain que c'est la première hypothèse qui est réalisée chez l'Abeille et aussi chez les Bombycides.

Nous savons, en effet, que dans beaucoup d'Algues les zoospores destinées à s'unir deux à deux peuvent, quand cette fusion ne s'est pas produite, germer et donner naissance à une plante *qui est toujours chétive.* Dans l'hétérogamie, il arrive parfois, mais c'est rare, que les microgonidies peuvent même aussi se développer seules. Il n'y a donc rien d'étonnant à ce que nous voyions un œuf gorgé de deutoplasme en faire autant et le pronucléus femelle se diviser de manière à donner dans bien des cas des blastomères, comme Bischoff l'a même constaté chez la Truie, ou pousser le développement assez loin, si le vitellus est abondant, pour que l'éclosion puisse se faire. On conçoit qu'alors, soignées avec amour par un entomologiste, des Chenilles puissent être tenues en vie jusqu'à la troisième génération, ce qui n'a d'ailleurs été réalisé qu'une fois par Carlier, et que les larves mâles d'Abeilles, plongées dans le miel de leur cellule, arrivent à se transformer et à accomplir l'unique acte de l'accouplement, malgré l'état très probablement incomplet de leurs noyaux.

Il serait intéressant de constater si, comme tout le fait prévoir, il y a entre les noyaux du mâle et de la femelle de l'*Apis mellifica* la même différence qu'entre les noyaux des deux variétés de l'*Ascaris megalocephala,* et si l'on peut également retrouver chez les Chenilles provenant d'œufs non fécondés l'attestation de leur origine parthénogénétique.

Il est infiniment probable, en effet, que c'est à un phénomène de ce genre qu'est due l'existence de cette seconde

variété de l'*Ascaris megalocephala* que Boveri a désignée sous le nom de *typus Van Beneden,* et qui possède des noyaux renfermant moitié moins de chromosomes que le *typus Carnoy*. Ces individus proviendraient d'œufs parthénogénétiques qui auraient pu se développer grâce à des conditions de nutrition exceptionnelles dans l'intestin de leur hôte, et aussi de l'hôte qui abritait leur ancêtre maternel, car on sait que Éd. Van Beneden a constaté chez les femelles vierges une dégénérescence bien remarquable.

La seconde hypothèse que nous avons faite sur la possibilité pour un animal de se développer par parthénogénèse trouve-t-elle sa réalisation dans la nature? Nous n'en savons rien, mais on doit s'attendre à trouver une non-réduction de la vésicule germinative dans des œufs qui expulseraient deux globules polaires et qui appartiendraient à des espèces où la parthénogénèse serait continue, sinon à chaque génération l'appauvrissement progressif des noyaux en chromosomes amènerait l'extinction de l'espèce.

Pour que des générations parthénogénétiques accidentelles puissent se succéder, comme dans le *Liparis dispar,* il faut évidemment que le nombre des chromosomes de la vésicule germinative se maintienne tel qu'il est après la première réduction. Il est presque certain qu'il en est ainsi dans les spermatogonies de l'Abeille, puisque la planche de Blochmann nous montre l'égalité complète des deux pronucléi. C'est à cette condition d'ailleurs seule que l'*Apis mellifica,* avec cette étrange habitude de ne jamais laisser féconder l'œuf du mâle, peut arriver à maintenir sa race.

On a maintes fois constaté que les pontes d'œufs accidentellement parthénogénétiques des Bombycides et des Tenthrédines, que les œufs forcément vierges des Abeilles

ouvrières comme les œufs pondus par les reines et non fécondés, donnent presque toujours des mâles. On pourrait en inférer que le fait d'être incomplets ne donne pas aux noyaux la vigueur physiologique nécessaire pour produire ces cellules compliquées qui constituent les œufs : nous savons, en effet, que normalement des noyaux même complets sont incapables de les constituer à eux seuls, puisque de nombreuses cellules dites nutritives doivent intervenir dans leur édification.

On voit dans quelles conditions précaires se trouve un animal dont la naissance est due à un phénomène de parthénogénèse accidentelle et quel détestable mode de reproduction celle-ci constitue.

Que signifie alors cette multiplication agame si active des Pucerons, des Daphnides et des Rotifères pendant l'été, cette parthénogénèse des espèces d'Ostracodes dont les mâles tendent à disparaître ou ont probablement tout à fait disparu, enfin la *Lucina sine concubitu* répétée des Cynipides, des Tenthrédines, des Chermes, de Thrips, de Psychides, de Tinéites, de l'Apus?

Nous savons que les œufs d'été des Pucerons, des Cladocères et des Rotifères, que les œufs également non fécondés des Ostracodes n'offrent qu'un corps directeur.

Or, la vésicule germinative contient, préformée, toute la chromatine des globules polaires : ce qui en reste après la maturation d'un œuf où il n'y a qu'un *Richtungskörper* renferme par conséquent et les chromosomes du pronucléus femelle et les chromosomes du second globule polaire qui, chez les Daphnides et les Pucerons, est expulsé lorsqu'il y a fécondation.

Le pronucléus unique a dans ce cas la valeur des deux

pronucléi d'un œuf ordinaire, puisque le noyau du second globule polaire a la valeur du pronucléus femelle et aussi du noyau du spermatozoïde. Comme il est prouvé que les noyaux seuls interviennent dans la fécondation, nous pouvons dire évidemment que le rôle du spermatozoïde a été joué par le second globule polaire.

Mais cette conclusion, à laquelle arrive également Boveri, ne pourrait nous suffire.

Le second globule polaire a la valeur morphologique d'un œuf.

Or, il est certain qu'il n'y a pas de différence essentielle entre le noyau de l'œuf et le noyau du spermatozoïde lorsque les gonocytes des deux sexes sont produits par le même individu, puisque l'évolution a tout fait pour empêcher leur commerce incestueux.

La non-expulsion du second globule polaire équivaut donc à une *fécondation.*

S'il y a fécondation il n'y a pas parthénogénèse !

La multiplication estivale des Pucerons, Rotifères et Daphnides consiste en une fécondation d'un œuf par un œuf. Ce serait de l'*isogamie* si les globules polaires n'avaient pas été réduits par l'évolution. Telle qu'elle est, elle constitue une forme spéciale d'*hermaphrodisme* qui mérite le nom d'OOGAMIE (1).

Le second globule polaire, n'étant pas même expulsé, joue dans cette fécondation si particulière un rôle absolument passif, de telle sorte que l'œuf semble se féconder lui-même.

---

(1) Nous avions d'abord choisi le terme d'*autogamie* pour désigner ce mode de reproduction; malheureusement cette dénomination est déjà appliquée en botanique à la fécondation d'une fleur par son propre pollen.

Il y a un siècle et demi, Charles Bonnet ([1]) écrivait dans son *Traité d'Insectologie,* après avoir rapporté le résultat de ses admirables recherches sur les Pucerons : « *Toutes les* » *observations précédentes ont eu pour principal objet de* » *prouver qu'il n'y a réellement aucun accouplement parmi* » *les Pucerons, qu'ils sont des espèces d'hermaphrodites du* » *genre le plus singulier ; des hermaphrodites qui se suffisent* » *à eux-mêmes.* »

Rien n'est à retrancher de cette assertion du génie devançant les temps.

Réaumur eut un moment aussi cette intuition, mais depuis qu'Owen inventa la parthénogénèse, seuls Balbiani ([2]) et Plateau ([3]) ont cherché à démontrer que les Pucerons sont androgynes.

Ces savants étaient évidemment guidés dans leur tentative par une compréhension très sage de l'impossibilité qu'il y aurait pour des organismes à se multiplier activement, ainsi que le font les Pucerons, par un procédé que la nature nous montre comme une désavantageuse exception d'une loi universelle.

L'oogamie n'a rien à voir avec la parthénogénèse ; elle n'en dérive point, et elle peut même coexister avec la fécondation normale par le spermatozoïde. Nous trouvons, en effet, dans le travail de Boveri sur l'*Ascaris megalocephala,* la mention d'une anomalie à laquelle nous avons déjà fait allusion plus haut, des œufs où il n'y a expulsion que d'un seul globule polaire. Dans ces gonocytes, le premier fuseau de maturation est tangentiel à la surface de l'œuf; il y a séparation des

---

([1]) Ch. Bonnet, *Traité d'Insectologie,* I, p. 116. — Paris, 1745.

([2]) E. G. Balbiani, *Sur la reproduction et l'embryogénie des Pucerons.* — C. R. Acad. de Paris, LXII, pp. 1231, 1285, 1390. — 1866.

([3]) F. Plateau, *Études sur la Parthénogénèse.* — Gand, 1868.

éléments chromatiques que doit renfermer le premier globule polaire, mais celui-ci n'est pas expulsé du vitellus ; de telle sorte que le second fuseau de maturation, perpendiculaire au premier et englobant dans ses filaments tous les chromosomes, donne lieu à un globule polaire qui renferme la quantité de chromatine qui devrait se trouver normalement dans le premier globule polaire. Il reste dans l'œuf, non seulement les deux chromosomes de l'*Eikern*, mais encore deux chromosomes qui auraient dû être expulsés dans la formation des globules polaires : deux pronucléi se constituent à côté du pronucléus mâle, et la plaque équatoriale arrive à contenir six chromosomes au lieu de quatre, c'est-à-dire deux de trop. Le spermatozoïde était ici parfaitement inutile pour la fécondation, et son apport de deux éléments chromatiques n'a probablement pour résultat que de faire produire à l'œuf un *Ascaris* géant.

Cette anomalie est excessivement intéressante, car elle nous permet d'entrevoir l'origine de l'oogamie.

Un accident quelconque peut amener la réunion des chromosomes du second globule polaire à ceux du noyau de l'œuf mûr, et ce phénomène peut se transmettre héréditairement. Dès lors, à moins d'une circonstance spéciale, l'accouplement et la fécondation par un spermatozoïde peuvent devenir un luxe : le spermatozoïde ne joue plus que le rôle de cette troisième gonidie qui, accidentellement chez les Algues, se réunit à deux gamètes déjà en conjugaison pour se fusionner avec elles. Le mâle tend ainsi à disparaître : peu à peu les femelles oogames pondent des œufs d'où ne sortent plus guère que des femelles, ce qui augmente encore les chances de multiplication de l'espèce. Ce n'est que de loin en loin, ou en certaines contrées, que parfois il naît des mâles, par un

phénomène d'atavisme. Ainsi se conçoit l'existence, à première vue paradoxale, de ces espèces d'Ostracodes dont les mâles sont à peu près inconnus et chez lesquels l'oogamie a été constatée par la présence d'un unique globule polaire.

La reproduction, telle qu'elle existe chez les *Cypris,* doit être également de mode chez les Psychides, les *Solenobia,* l'*Apus,* certaines Tenthrédines, beaucoup de Cynipides, etc., dont les mâles sont devenus excessivement rares ou même ont probablement complètement disparu : les œufs de ces soi-disant animaux parthénogénétiques sont sans doute purement oogames.

Chez les Rotifères et les Daphnides, l'oogamie alterne avec la reproduction sexuelle. Celle-ci s'est maintenue pour la production d'œufs d'hiver qui permettent à l'espèce de passer la mauvaise saison ; mais, par adaptation permettant une multiplication extraordinaire des individus, se montre sous l'influence directe des conditions extérieures une génération estivale de femelles pondant des œufs où n'est expulsé qu'un globule polaire.

Chez les Aphidiens il en est de même, mais ici la sélection a poussé beaucoup plus loin les choses ; les individus oogames diffèrent de ceux qui se reproduisent sexuellement par des caractères importants, une adaptation beaucoup plus étroite au nouveau mode de reproduction, par la perte de tout appareil d'accouplement.

L'œuf oogame a pris en même temps des caractères nouveaux : chez les Daphnides et les Rotifères, son évolution étant destinée à se faire immédiatement et rapidement, sous l'heureuse influence des conditions estivales et d'une nourriture abondante, sa structure s'est simplifiée et est arrivée à différer de l'œuf fécondé obligé de passer l'hiver bien protégé dans une coque résistante.

Chez les Pucerons, le développement de l'œuf de la forme oogame a pu être de plus en plus anticipé et commencer très tôt dans les gaines ovigères, de manière à amener le viviparisme et même la perte complète de toute membrane vitelline, sous l'influence d'une nutrition incessante.

Telle semble avoir été la marche suivie par l'évolution pour produire cette forme spéciale d'hermaphrodisme qui atteint sa plus haute expression chez les Pucerons : c'est probablement chez eux que l'oogamie a fait sa première apparition dans le monde organique.

Nous avons constaté chez l'*Asplanchna Sieboldii* et chez les Pucerons que toute trace d'expulsion du second globule polaire a disparu, qu'il ne se forme qu'un seul pronucléus, double ou hermaphrodite; mais il pourrait y avoir des œufs oogames où il n'en serait pas de même : deux *Richtungskörper* pourraient être formés, et le second arriverait d'une façon quelconque à subir la karyokinèse de concert avec le pronucléus femelle.

C'est ce que nous voyons dans l'anomalie indiquée par Boveri chez l'*Ascaris,* et ce phénomène pourrait se produire surtout aisément dans les œufs de certains Insectes où les globules polaires, purement nucléaires, ne sortent point du vitellus et prennent rapidement les caractères d'un noyau au repos. Il suffirait alors qu'ils soient à proximité d'un pronucléus pour s'unir à lui et amener l'oogamie.

Or, les Insectes chez lesquels se rencontrent ces globules polaires particuliers, si favorables à une réunion avec le pronucléus femelle, sont précisément, outre les Diptères, les Hyménoptères et les Lépidoptères nocturnes, par conséquent ceux chez lesquels a été constatée cette disparition du mâle qui semble dénoter l'existence de l'oogamie : ce fait démon-

trerait comment ce mode de reproduction a pu s'établir dans des animaux de ces groupes plutôt que dans d'autres.

Il faut encore remarquer que chez les Insectes de ces ordres, l'oogamie accidentelle qui existe chez l'*Ascaris megalocephala* doit se produire assez facilement; par conséquent, quand l'œuf ne reçoit pas de spermatozoïde, il peut arriver fortuitement qu'il y ait fécondation par un globule polaire : *beaucoup de soi-disant cas de parthénogénèse accidentelle ne sont vraisemblablement que des cas d'oogamie occasionnelle.* Ce sont en effet les œufs des Lépidoptères nocturnes dont on a eu le plus souvent l'occasion de constater l'éclosion, sans qu'il y ait eu accouplement, et jamais ceux des Rhopalocères : or, Blochmann a trouvé que chez la Piéride du chou les globules polaires sont réellement expulsés de l'œuf, ce qui rend l'oogamie plus problématique, tandis que chez le *Liparis dispar,* Platner constate qu'ils restent dans le vitellus.

Cette *oogamie accidentelle* vient donc avec l'*oogamie définitive* des Cypris et de beaucoup d'Insectes probablement, et l'*oogamie alternante* des Pucerons, Rotifères et Daphnides restreindre singulièrement le champ de la parthénogénèse!

Traquons celle-ci dans ses derniers retranchements. La formation des Cercaires dans les Sporocystes et les Rédies est considérée souvent comme de nature parthénogénétique. Il n'en peut être ainsi : ce ne sont point des œufs qui se développent dans ce cas, mais de simples cellules à noyaux complets que l'on a très justement comparées à des spores. Nous ne saurions mieux rapprocher le phénomène que de celui que nous offrent ces cellules particulières des colonies de Volvocinées qui prennent un grand accroissement et qui donnent naissance directement à une colonie fille à l'intérieur de la colonie mère : nous voulons parler des Parthénogoni-

dies, que nous considérons comme mal nommées, n'étant pas le moins du monde destinées à la conjugaison et n'ayant point la signification de gamètes. Ce sont de simples spores analogues à ces zoospores deux fois plus grosses que les gonidies si fréquentes chez les Algues, et qui reproduisent la plante sans jamais se conjuguer. Là, comme chez les Trématodes, il s'agit simplement d'agamogénèse.

En est-il de même chez les Diptères des genres *Cecidomyia, Miaster, Heteropeza,* c'est bien probable. Leur multiplication larvaire est peut-être de l'oogamie, mais très certainement pas de la parthénogénèse.

Celle-ci n'existe que pour des œufs qui expulsent deux globules polaires, ne reçoivent point de spermatozoïde, et où le pronucléus femelle engendre à lui tout seul l'embryon.

Elle est, chez les animaux, un phénomène excessivement rare, et qui n'affecte sans doute jamais dans la nature plus d'une génération.

Nous n'en connaissons que deux cas :

1° Elle est purement *accidentelle* et constitue une anomalie, une monstruosité, comme chez le *Liparis dispar,* chez les Vespides et les Apiaires, peut-être chez l'*Ascaris megalocephala* et quelques autres animaux, mais surtout des Insectes.

2° Elle est *adaptative,* et dans le monde organique nous n'en trouvons probablement qu'un seul exemple : chez l'œuf destiné à donner le mâle de l'*Apis mellifica.* Elle constitue là une adaptation éminemment remarquable, mais qui a sa source dans un simple accident, l'arrénotokie des femelles non fécondées et des ouvrières nourries avec la pâtée royale.

L'évolution a fait, mais nous ignorons comment, que la femelle est arrivée à employer tous les spermatozoïdes de son *receptaculum seminis* à la fécondation d'œufs qui donnent les

individus valides de la société, les ouvrières et les reines; comme pour produire des mâles, sans doute grâce à l'élevage en nourrice, les spermatozoïdes sont inutiles, ils ont pu être supprimés sans inconvénient, ce qui permet à la reine de féconder une plus grande quantité d'œufs d'ouvrières, et d'accroître ainsi la prospérité de la ruche.

Les mâles arrivent à l'état parfait : stupides et incapables d'aller butiner sur les fleurs, ils ont cependant l'énergie suffisante pour fonctionner comme machine d'accouplement et accomplir ainsi le seul acte social pour lequel ils sont nécessaires.

On voit combien ce cas de parthénogénèse est entouré de circonstances artificielles produites par la vie en société : il pourrait, sans doute, être comparé à la déformation du pied des Chinoises et à la taille de guêpe de nos femmes blanches, véritables monstruosités entretenues pour des motifs d'ordre sociologique.

Chez l'Abeille comme ailleurs, la parthénogénèse ne s'étend pas à une seconde génération et constitue un mode de reproduction tout à fait anomal.

Il n'était donc pas loin de la vérité le professeur Plateau lorsqu'il a dit [1] : « Un jour viendra, et il est peut-être plus » prochain qu'on ne le pense, où ces deux mots *parthénogénèse* » et *hétérogamie* disparaîtront à tout jamais de la science » sérieuse. »

La parthénogénèse existe dans la nature, mais elle est du domaine de la tératologie.

Cette conclusion est trop conforme aux desiderata de la biologie positive pour ne pas être accueillie favorablement.

---

[1] F. Plateau, *Études sur la Parthénogénèse,* p. 116. — Gand, 1868.

Nous sommes arrivé à la formuler très simplement en fixant la signification véritable des globules polaires et en définissant l'oogamie.

Il a suffi pour cela que nous confrontions les faits acquis à la science et les diverses hypothèses qui ont été tour à tour émises sur la maturation de l'œuf. Remarquons que chacune de celles-ci, sans exception, pour ainsi dire, renferme une part de la vérité. Puisse-t-il en être de même pour celles que nous avons semées occasionnellement au cours de ce travail !

Bruxelles, 27 août 1889.

EXPLICATION DES PLANCHES.

Pl. I et II. — Un œuf d'été de l'Asplanchna Sieboldii Leydig vivant, montrant la suite des phénomènes de la maturation et des premiers moments de la segmentation.

Pl. I, fig. 1. — Oogonie au sortir de l'ovaire.
— fig. 2. — La vésicule germinative s'est approchée de la périphérie.
— fig. 3. — Déformation de la vésicule et disparition de la tache germinative.
— fig. 4. — Fuseau de maturation.
— fig. 5. — Hernie du globule polaire.
— fig. 6. — Œuf immédiatement après l'aplatissement du globule polaire.
— fig. 7. — Noyau de l'œuf revenu au centre, encore animé de mouvements amœboïdes.
— fig. 8. — Œuf montrant le pronucléus unique au repos.
— fig. 9. — Déformation du noyau ovulaire.

Pl. II, fig. 1. — Premier fuseau de segmentation.
— fig. 2. — L'œuf immédiatement après la division en deux blastomères.
— fig. 3. — Œuf divisé en deux blastomères, leurs noyaux revenus au stade de repos.
— fig. 4. — Déformation des noyaux des deux blastomères.
— fig. 5. — Les deux fuseaux de la segmentation en quatre blastomères.
— fig. 6. — Œuf immédiatement après la segmentation du premier micromère.
— fig. 7. — Œuf immédiatement après la segmentation du premier macromère.
— fig. 8. — Œuf divisé en quatre blastomères encore indépendants.
— fig. 9. — Les quatre blastomères se sont serrés les uns contre les autres; le globule polaire à leur intersection.

Pl. III, fig. 1-8. — Coupes de l'Aphis rosæ Linn.

Zeiss, oc. 2, obj. $^{1}/_{18}$, long. tub. 140^{mm}, camer. luc.

Pl. III, fig. 1. — Œuf à protoplasme homogène et à vésicule germinative centrale, immédiatement en arrière de la chambre terminale.

— fig. 2. — Œuf commençant à renfermer du deutoplasme.

— fig. 3. — La vésicule germinative arrivée à la périphérie.

— fig. 4. — Plaque équatoriale de maturation.

— fig. 5. — Œuf immédiatement après l'expulsion du globule polaire.

— fig. 6. — Œuf dont le pronucléus unique est à l'état de repos.

— fig. 7. — Prophase des deux premiers noyaux de segmentation.

— fig. 8. — Métaphase des deux premiers noyaux de segmentation.

Pl. III, fig. 9-16. — Coupes de l'Aphis sambuci Linn.

Zeiss, oc. 2, obj. $^{1}/_{18}$, long. tub. 155^{mm}, camer. luc.

Pl. III, fig. 9. — Œufs dont la vésicule germinative est encore centrale.

— fig. 10-12. — Œufs plus avancés, dans lesquels la vésicule germinative est située à la périphérie.

— fig. 13. — Œuf montrant le globule polaire expulsé et le pronucléus unique au repos.

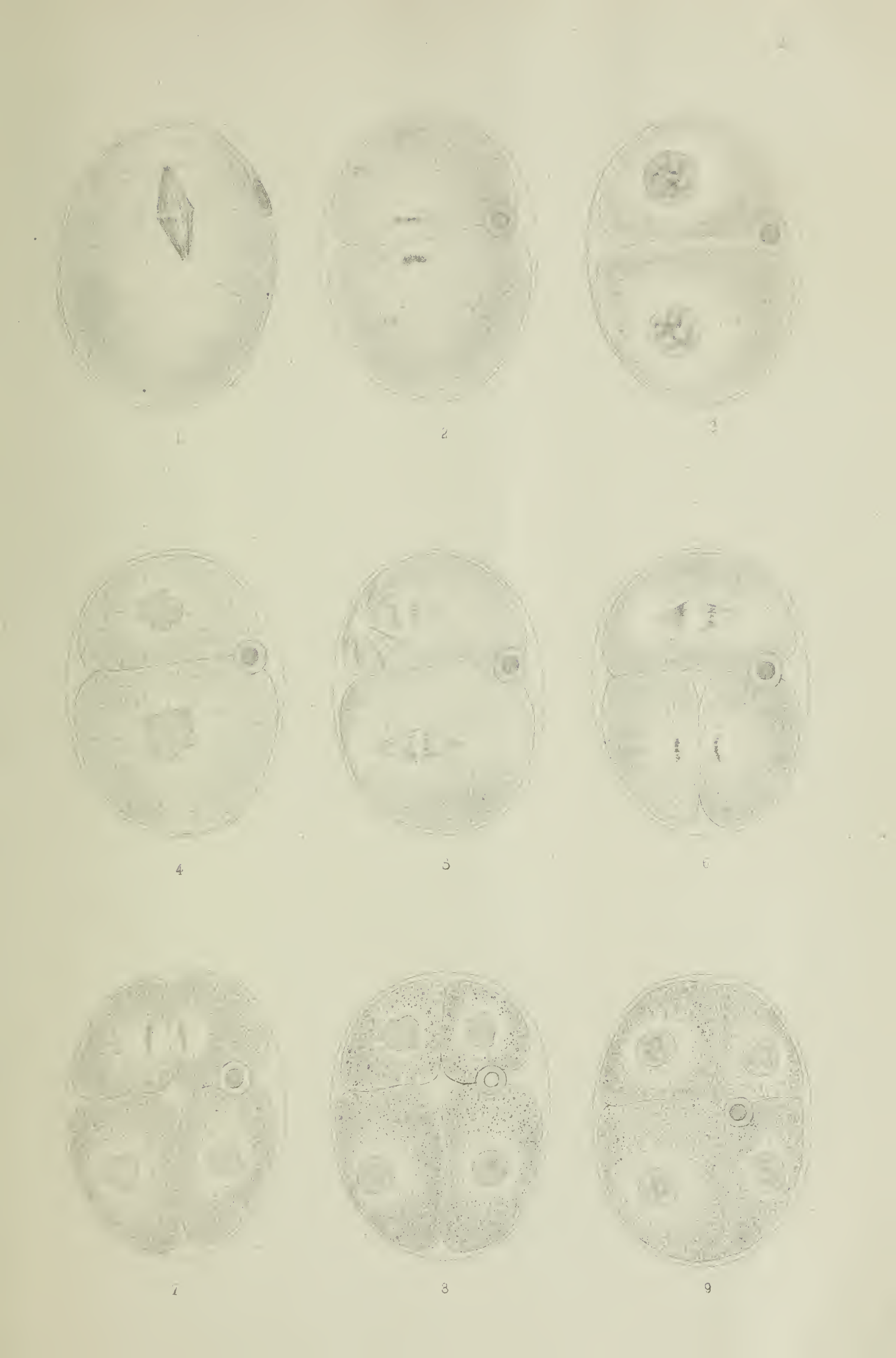
— fig. 14. — Prophase du pronucléus unique.

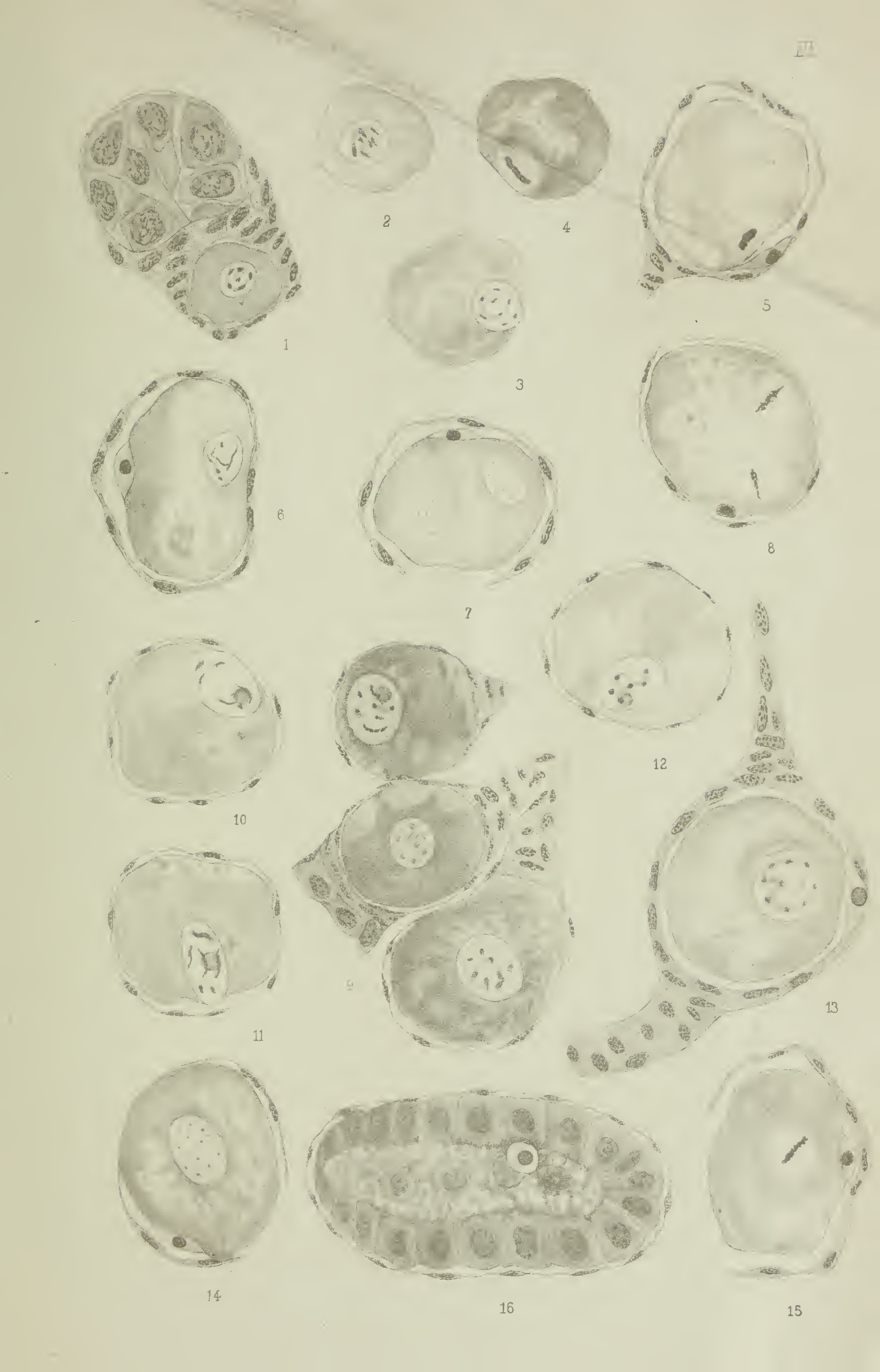
— fig. 15. — Métaphase du pronucléus unique.

— fig. 16 — Embryon montrant encore le globule polaire




I
1
2
3
4
5
6
7
8
9


1
2
3
4
5
6
7
8
9


1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16